UNIVERSITÉ DE PARIS - FACULTÉ DE PHARMACIE

ANNÉE SCOLAIRE 1947-1948 - SÉRIE U - 137

ÉTUDE du GELSEMIUM SEMPERVIRENS

●

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE

(DOCTORAT D'UNIVERSITÉ)

présentée et soutenue le 30 Juin 1948

PAR

A. DEBAY

Docteur en Pharmacie

Diplômé des certificats de Pharmacotechnie et de Pharmacodynamie
Lauréat de la Faculté de Pharmacie de Paris et de l'Académie de Pharmacie
Ex-Interne des Hôpitaux de Paris.

JURY

MM. MM. JANOT..... Président
J. COURTOIS..... Professeur
Y. RAOUL..... Professeur

IMPRIMERIES BOUCHET ET LAKARA

5 bis, rue Béranger, PARIS (3e)

1950

UNIVERSITÉ DE PARIS - FACULTÉ DE PHARMACIE

ANNÉE SCOLAIRE 1947-1948 - SÉRIE U - 137

ÉTUDE du GELSEMIUM SEMPERVIRENS

●

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE

(DOCTORAT D'UNIVERSITÉ)

présentée et soutenue le 30 Juin 1948

PAR

A. DEBAY

Docteur en Pharmacie

Diplômé des certificats de Pharmacotechnie et de Pharmacodynamie
Lauréat de la Faculté de Pharmacie de Paris et de l'Académie de Pharmacie
Ex-Interne des Hôpitaux de Paris.

JURY

MM. MM. JANOT..... Président
J. COURTOIS..... Professeur
Y. RAOUL..... Professeur

IMPRIMERIES BOUCHET ET LAKARA
5 bis, rue Béranger, PARIS (3e)

1950

Personnel de la Faculté de Pharmacie de Paris

ADMINISTRATION

MM. René FABRE, *Doyen*, O. ✻, ✪ I.
DELABY, *Assesseur*, O. ✻, ✪ I.
G. CUVIER, *Secrétaire*, ✪ I.
L. JEANDEL, *Rédacteur principal*, ✪ A.
E. BUVAT, *Commis*, ✪ A.
Mme M. L. ESPINASSE, *Commis*.
M. A. QUILLOT, *Commis*.

PROFESSEURS

MM. FABRE, O. ✻, ✪ I.	*Toxicologie.*
DELABY, O. ✻, ✪ I.	*Pharmacie chimique.*
SARTORY, C. ✻, ✪ I.	*Microbiologie.*
PICON, ✻, ✪ I.	*Chimie minérale.*
MASCRE, ✻, ✪ I.	*Botanique.*
FLEURY, ✻, ✪ I.	*Chimie biologique.*
JANOT, ✻, ✪ I.	*Pharmacie galénique.*
CHARONNAT, ✻, ✪ I.	*Chimie organique.*
VALETTE, ✪ I.	*Zoologie appliquée.*
BEDEL, ✻, ✪ I.	*Législation, Déontologie et Histoire de la Pharmacie.*
PARIS, ✪ A.	*Histoire naturelle des médicaments simples d'origine végétale.*
GUILLOT, ✪ A.	*Physique.*
GAUTIER, ✪ I.	*Chimie analytique.*
RAOUL, DOMANGE, ✪ I., CRÉTÉ, COURTOIS	*Professeurs sans chaire.*

Doyen honoraire : M. RADAIS, O. ✻, ✪ I.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. DELÉPINE, O. ✻, ✪ I. et LEBEAU, C. ✻, ✪ I., *membres de l'Institut*
PERROT, C. ✻, ✪ I., COUTIÈRE, O. ✻, ✪ I., BOUGAULT, O. ✻, ✪ I., LUTZ, ✻, O.I., GORIS, O. ✻ ✪ I., HÉRISSEY, O. ✻, ✪ I., LAUNOY, O. ✻, ✪ I., SOMMELET, O. ✻, ✪ I.

MAITRES DE CONFÉRENCES

MM. MORETTE	*Sciences physiques et chimiques.*
CAVIER	*Sciences naturelles.*
Mlle LAMBIN, ✪ I.	*Sciences naturelles.*
MM. TRUHAUT, ✻, ✪ A.	*Sciences physiques et chimiques.*
MOREAU	*Sciences physiques et chimiques.*
GUY	*Sciences physiques et chimiques.*

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. CORRIEZ, ✪ I.	*Physique.*
HARISPE, travaux pratiques de 1re année	*Chimie générale et pharmaceutique.*
DEYSSON	*Botanique.*
GERMAN	*Microbiologie.*
GIRARD	*Chimie biologique.*
MANGEOT	*Chimie 4e année.*
PIETTE	*Biologie animale.*
RENAULT H.	*Chimie analytique.*

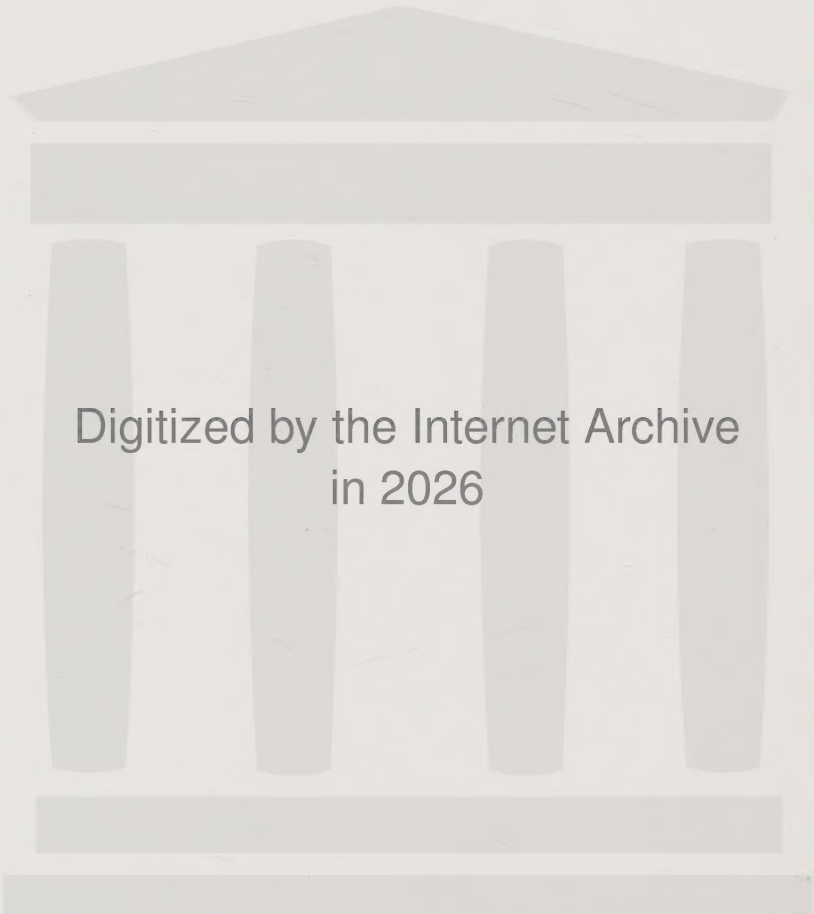
Bibliothécaire en Chef : M. GARNIER, ✻, ✪ I.
Bibliothécaires : Mlle LAVAUD, ✪ A.
Mme KREHMER.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

A MES PARENTS

A Monsieur le Professeur M.-M. JANOT

qui m'a fait le grand honneur de m'accepter parmi ses élèves, en témoignage de ma profonde gratitude.


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543514_0058

A Monsieur le Professeur
Y. RAOUL

A Monsieur le Professeur
J. COURTOIS

qui voulurent bien s'intéresser
à mon travail et faire partie
de mon jury de thèse.

SOMMAIRE

PREMIÈRE PARTIE

EXTRACTION DES ALCALOÏDES DU GELSEMIUM SEMPERVIRENS

CHAPITRE I

SEMPERVIRINE-GELSÉMINE 2

§ 1. — Matières premières utilisées 2

§ 2. — Extraction : Méthode Ferreira..... 2

§ 3. — Extraction : Méthode aux picrates .. 5

Principe.
Technique.

1° *Précipitation des alcaloïdes à l'état de picrates.* 6

2° *Séparation des deux picrates* 7

3° *Préparation de la Sempervirine base à partir de son picrate* 7

4° *Obtention de la Gelsémine base* 8

§ 4. — Comparaison des résultats obtenus dans les deux procédés 9

§ 5. — Application de la méthode d'extraction aux picrates.

Évaluation de la teneur d'une poudre en alcaloides 9

1° *Epuisement à l'alcool à 95° de la poudre de Gelsemium*..... 10

2° *Epuisement à l'alcool à 95° de la poudre de Gelsemium alcalinisée* 10

3° *Epuisement chloroformique de la poudre de Gelsemium alcalinisée* 11

4° *Conclusion* 11

§ 6. — Modifications apportées a la méthode aux picrates 11

1° *Première modification. — Etude de l'élimination de l'acide gelsémique* 12

2° *Deuxième modification* 13

CHAPITRE II

EXTRACTION D'UN 3e ALCALOIDE CRISTALLISÉ 19

§ 1. — Généralités sur l'extraction de la Gelsémicine 19

§ 2. — Traitement des eaux-mères de la gelsémine par chromatographie 20

A) *Chromatographie* 20

B) *Mode opératoire* 22

C) *Benzoylation de la fraction amorphe à pouvoir rotatoire gauche* 24

D) *Hydrolyse du dérivé benzoylé. — Obtention de la base* 25

E) *Analyses* 26

§ 3. — Traitement d'une solution chloroformique d'acide gelsémique 27

DEUXIÈME PARTIE

ÉTUDE DES ALCALOIDES DU GELSEMIUM SEMPERVIRENS

I. — **GELSÉMINE** 31

CHAPITRE I

GÉNÉRALITÉS ET RAPPEL DES NOTIONS ÉTABLIES 32

CHAPITRE II

TRAVAUX PERSONNELS..... 34

Distillation sur poudre de zinc dans le vide.. 35

A) *Principe*..... 35

B) *Appareil*..... 35

C) *Technique et résultat obtenu*..... 35

D) *Synthèse du β-Méthyloxindole*..... 40

E) *Conclusion*..... 42

II. — **SEMPERVIRINE**..... 43

CHAPITRE I

ÉTUDE PRÉLIMINAIRE. — CRISTALLISATION DE LA SEMPERVIRINE..... 44

§ 1. — Préparation du chlorhydrate de sempervirine. Technique..... 45

§ 2. — Préparation de la sempervirine cristallisée dans l'alcool. Technique. 45

§ 3. — Passage de cette forme a la forme cristallisée dans le chloroforme. — Technique..... 46

§ 4. — Essai de purification de la Sempervirine : Chromatographie.

Technique..... 47

Conclusion..... 50

§ 5. — Essai de purification par distillation dans le vide..... 50

§ 6. — Préparation des tartrates de Sempervirine..... 51

CHAPITRE II

ÉTUDE DE LA STRUCTURE CHIMIQUE DE LA SEMPERVIRINE..... 53

§ 1. — Rappel des notions établies..... 53

§ 2. — Travaux personnels dont les résultats furent négatifs 55

Hydrogénation 55

Action de SO_2 gazeux 56

Ozonisation 56

§ 3. — Exposé sur les travaux permettant de proposer une formule pour la Sempervirine 57

§ 4. — Partie expérimentale 62

a) *Chauffage de la Sempervirine en présence de charbon palladié* 62

Appareil..... 63

Technique..... 64

Analyse 65

b) *Chauffage en présence de Sélénium*..... 66

c) *Distillation dans le vide du chlorhydrate de Sempervirine sur poudre de zinc*..... 67

CONCLUSION 69

BIBLIOGRAPHIE..... 71

INTRODUCTION

Avant la guerre, M. FERREIRA avait entrepris au laboratoire de Pharmacie Galénique, sur les conseils de Monsieur le Professeur M.-M. JANOT, une étude du GELSEMIUM SEMPERVIRENS Ait, Loganiacées, originaire des Etats du Sud des Etats-Unis et du Mexique.

Les hostilités ayant obligé M. FERREIRA à regagner le Brésil, ses recherches se trouvèrent interrompues. Il put cependant soutenir sa thèse en 1940 (6).

En 1943, *il nous fut proposé de poursuivre cet intéressant travail.*

Le GELSEMIUM contient au moins trois alcaloïdes bien décrits :

SEMPERVIRINE, GELSÉMINE, GELSÉMICINE

Si les deux premiers principes sont relativement faciles à isoler, la gelsémicine semblait, en revanche, beaucoup plus difficile à extraire et M. FERREIRA, reprenant une méthode de T.-Q. CHOU, s'était efforcé d'obtenir cet alcaloïde signalé comme étant de beaucoup la base la plus toxique. Il n'avait pu y parvenir, malgré la mise en œuvre de quantités de GELSEMIUM en apparence suffisantes.

Nous devions donc tout d'abord reprendre l'étude des procédés d'extraction des alcaloïdes et tenter si possible l'isolement de la gelsémicine, en utilisant des méthodes différentes, bien, qu'à priori, il ne fut pas prouvé que le lot de GELSEMIUM mis à notre disposition en contînt une quantité susceptible d'être extraite et convenablement purifiée.

Nous avions ensuite à poursuivre l'étude de la structure de ces alcaloïdes, c'est-à-dire de ceux dont nous possédions une quantité suffisante. Il faut d'ailleurs remarquer, à ce sujet, que le manque de matière première a toujours été un très gros obstacle à l'avancement de ces recherches car, du fait de la guerre, nous étions isolés des pays d'origine de la drogue.

Avant d'aborder cet exposé, je tiens à signaler ma profonde gratitude à Monsieur le Professeur M.-M. Janot qui m'a fait l'honneur de m'accepter dans son laboratoire et m'a confié le sujet de cette thèse, me donnant constamment les encouragements indispensables au cours d'un travail qui resta longtemps infructueux.

Je remercie Monsieur R. Goutarel qui voulut bien me faire profiter de sa grande expérience et dont les conseils m'ont guidé tout au long de ces recherches.

Je remercie également :

Monsieur M. Chaigneau, dont la compétence technique me fut si utile pour toutes les questions concernant les pyrogénations et les distillations sous vide ;

Monsieur V. Hasenfratz qui, en me donnant un échantillon de sempervirine, m'a permis d'étendre le champ de ces expériences.

Monsieur H. Pénau, qui a eu l'obligeance de faire préparer à l'U.C.L.A.F. la poudre et l'extrait chloroformique de Gelsémium, dont je me suis servi.

J'exprime ma reconnaissance à l'Office Scientifique de la Recherche Coloniale pour l'aide matérielle qu'il m'a procurée et sans laquelle je n'aurais pu poursuivre ce travail.

J'adresse enfin l'expression de toute mon amitié à mes camarades de laboratoire, en particulier à J. Keufer et J. Le Men.

PREMIÈRE PARTIE

EXTRACTION DES ALCALOÏDES DU GELSEMIUM SEMPERVIRENS

CHAPITRE PREMIER

SEMPERVIRINE — GELSÉMINE

§ 1. — Matières premières utilisées

Ferreira (6) prépara au moyen d'un appareil à épuisement continu à chaud, un extrait chloroformique de la poudre de Gelsemium préalablement imbibée d'une solution de carbonate neutre de sodium.

Ce procédé lui donnait les meilleurs rendements en alcaloïdes.

Il restait une certaine quantité de cet extrait dont un litre correspondait à 7 kilogs de plante.

Nous avions de plus à notre disposition une vingtaine de kilogs de racines de Gelsemium qui furent pulvérisées et dont la teneur en alcaloïdes restait à déterminer.

§ 2. — Extraction par la méthode de Ferreira

Il fallait d'abord contrôler la valeur de l'extrait chloroformique qui pouvait s'être altéré.

Aussi, fut réalisée une extraction complète, telle que la décrivait Ferreira.

Le principe en est le suivant :

On épuise l'extrait chloroformique à froid au moyen d'une solution aqueuse à 2 % d'acide chlorhydrique. On obtient ainsi une liqueur acide contenant les alcaloïdes à l'état de chlorhydrates solubles.

On précipite la sempervirine par addition de nitrate de sodium. Le nitrate de sempervirine formé étant particulièrement insoluble à froid, on le sépare et le purifie par recristallisation dans l'alcool à 95°.

On élimine ensuite l'acide GELSÉMIQUE en agitant la solution acide avec une certaine quantité de chloroforme, puis passant en milieu alcalin par l'ammoniaque, on épuise au chloroforme.

L'évaporation de cet extrait chloroformique donne un vernis brun rouge, cristallisant rapidement en présence d'acétone pour donner la GELSÉMINE que l'on purifie par cristallisations successives dans l'acétone.

Le détail de ces opérations, avec les quantités de liquides employées, est résumé dans le schéma ci-joint :

Nous obtenons de cette façon du nitrate de SEMPERVIRINE en beaux cristaux jaunes rassemblés en rosette. A partir de ce sel, la base est régénérée sous forme de longues aiguilles rouge orangé cristallisées dans le chloroforme en un feutrage soyeux.

La GELSÉMINE est obtenue directement dans un état de pureté assez grand, si l'on considère la coloration rouge foncé des eaux-mères acétoniques.

Après deux recristallisations dans l'acétone, nous obtenons de très belles aiguilles blanches ou même des cristaux beaucoup plus gros, si la cristallisation s'opère très lentement.

Le rendement de cette opération, de même que la qualité des produits obtenus, sont en tous points comparables à ceux signalés par FERREIRA :

Nitrate de Sempervirine ..... 1 *g.* 0/00
Gelsémine base..... 1 *g.* 0/00

EXTRAIT CHLOROFORMIQUE FERREIRA — 1 litre

+ solution ClH 2 % — 4 × 1 litre

↓

solution chlorhydrique : 4 litres concentrés à 2,5 litres + solution de NO_3 Na à saturation QS.

↙ ↘

NITRATE DE SEMPERVIRINE

en précipité floconneux séparé par centrifugation, purifié par recristallisation dans l'alcool.

SOLUTION CHLORHYDRIQUE

épuisée par 2 × 1 litre de $CHCl_3$.

↙ ↓

SOLUTION CHLORHYDRIQUE + NH_4 OH jusqu'à réaction alcaline.

SOLUTION CHLOROFORMIQUE D'ACIDE GELSÉMIQUE

+ $CHCl_3$ { 1 litre / 500 cm³ / 500 cm³

↓

SOLUTION CHLOROFORMIQUE DE GELSÉMINE

lavée,
séchée : SO_4 Na_2 anhydre,
évaporée à sec sous vide.

↓

GELSÉMINE ACÉTONIQUE ← Résidu + CH_3-CO-CH_3

§ 3. — Extraction par la méthode aux picrates

Ce travail préliminaire étant achevé, nous n'avons pas tenté de reconstituer la méthode d'extraction décrite par T.-Q Chou (3) qui aboutissait à la découverte d'un troisième alcaloïde cristallisé : la gelsémicine. Ferreira, en l'appliquant à plusieurs reprises, n'avait obtenu que des résultats décevants. Nous nous sommes attachés, en revanche, à mettre au point une méthode d'isolement des alcaloïdes basée sur des principes différents.

V. Hasenfratz avait décrit (11) le picrate d'un des alcaloïdes : *le picrate de sempervirine,* corps jaune cristallin insoluble dans l'eau et l'alcool à froid et presque insoluble dans l'alcool bouillant.

Il était intéressant d'établir la comparaison avec le *picrate de gelsémine* qui pouvait présenter des solubilités différentes.

Nous avons donc préparé les picrates des deux alcaloïdes :

Picrate de sempervirine :

Il se prépare en ajoutant à une solution alcoolique de la base, une solution alcoolique d'acide picrique en quantité calculée. Il se produit immédiatement un précipité jaune d'or, qui ne se redissout pas quand on réchauffe la solution au bain-marie.

Le produit isolé a un point de fusion de 288-289°.

Ce picrate est également peu soluble dans l'acétone.

Picrate de gelsémine :

Nous l'avons préparé dans les mêmes conditions. Il se produit un précipité jaune d'or immédiat, mais qui, à la différence du picrate de sempervirine, se redissout facilement au bain-marie.

Il cristallise par refroidissement, mais peut rester en solution, si la quantité d'alcool est suffisante.

Le produit isolé a un point de fusion de 194-195°.

Cette différence de solubilité très intéressante nous a permis d'envisager la séparation des deux alcaloïdes à l'état de picrates par un traitement à l'alcool à 95° chaud.

Un premier procédé d'extraction fut alors envisagé.

Principe

Une fraction de l'extrait chloroformique de Ferreira est évaporée et le résidu épuisé systématiquement au bain-marie au moyen d'une solution aqueuse acide.

On débarrasse cette solution de l'acide gelsémique qu'elle contient, par épuisement chloroformique, puis passant en milieu alcalin, on épuise au chloroforme. Cet épuisement fournit le totum alcaloïdique déjà purifié que l'on redissout dans l'alcool et traite par une solution d'acide picrique à chaud : le picrate de sempervirine s'insolubilise, on le sépare immédiatement par filtration ; le filtrat contient le picrate de gelsémine.

Il faut ensuite régénérer les bases correspondant aux picrates.

Technique

1° — *Précipitation des alcaloïdes à l'état de picrates*

On emploie dans cette opération un litre de l'extrait chloroformique concentré de Ferreira.

On l'évapore sous pression réduite.

L'extrait résineux obtenu est épuisé par une solution aqueuse d'acide formique à 2 % (4 litres), puis à 1 %, jusqu'à ce que la quantité d'alcaloïdes ainsi extraite soit négligeable, ce que l'on constate par addition de réactif de Mayer-Valser à une portion de la solution acide d'extraction.

L'acide gelsémique est éliminé ensuite par agitation de l'ensemble des liqueurs acides en présence d'un litre de chloroforme.

On alcalinise ensuite à l'ammoniaque, et extrait au chloroforme la totalité des bases déplacées de leurs sels.

On lave et sèche le chloroforme sur sulfate de sodium anhydre. On filtre et évapore sous pression réduite.

Il reste un vernis brun rouge.

Ce vernis est dissous à chaud dans le minimum d'alcool à 95° (40 cm^3).

On ajoute à cette liqueur une solution alcoolique de 20 g. d'acide picrique. Il se produit immédiatement un

précipité jaune d'or qu'on laisse déposer. On porte à la glacière.

On essore : on obtient ainsi 29 g. de picrate d'alcaloïdes de couleur orangée avec des portions plus claires.

2° — *Séparation des deux picrates*

On délaye ce picrate total au mortier avec le filtrat de l'opération précédente, ceci afin de ne pas perdre la fraction de picrate de gelsémine restée en solution.

On réchauffe au bain-marie, ajoute un peu d'alcool chaud et décante au fur et à mesure sur un filtre en verre poreux.

Ce lavage nécessite en tout l'emploi de 1.250 cm³ d'alcool à 95°. Il reste sur le filtre 11 g. de picrate insoluble jaune pâle de P.F. 286°-287°, c'est-à-dire du picrate de sempervirine dans un état de pureté déjà avancé.

Le filtrat contient le picrate de gelsémine en solution.

3° — *Préparation de la sempervirine base à partir de son picrate*

Principe

Le picrate de sempervirine pulvérisé est décomposé par addition de potasse en solution dans l'alcool méthylique.

On obtient un précipité de picrate de potassium et le filtrat alcoolique contient la base en solution. On le dilue avec de l'eau et l'épuise au chloroforme. On évapore ensuite ce solvant jusqu'à début de cristallisation.

Technique

On prépare 30 cm³ de solution de potasse N dans l'alcool méthylique. On dilue avec 50 cm³ de ce même alcool, fait chauffer et verse sur le picrate de sempervirine, finement pulvérisé, en le délayant très soigneusement pour éviter la formation de grumeaux qui resteraient inattaqués.

Il se produit une coloration rouge sang.

On décante sur un filtre de verre, qui retient le précipité de picrate de potassium.

On reprend le précipité par quelques centimètres cubes de potasse méthylique N/10 pour assurer une décomposition totale. On essore et lave avec un peu d'alcool méthylique. Il est avantageux d'épuiser le précipité de picrate de potassium avec du chloroforme à l'ébullition qui enlève les dernières traces de l'alcaloïde déplacé, mais retenu par adsorption.

Ce chloroforme sera traité en même temps que le chloroforme de l'épuisement qui va suivre. En effet, le filtrat alcoolique contient la sempervirine base : on le dilue fortement par addition d'eau distillée et épuise au chloroforme qu'on lave, sèche sur sulfate de sodium anhydre et évapore sous pression réduite jusqu'à début de cristallisation.

On porte alors à la glacière. La sempervirine base est recueillie sous forme d'aiguilles brun rouge agglomérées en un feutrage compact.

Le point de fusion est incertain, il se forme une pâte noirâtre dont la fusion est mal définie ; on peut toutefois le situer aux environs de 260°.

Cette première cristallisation et la concentration des eaux-mères fournissent :

5,50 *g. de sempervirine base,*
soit 0,78 *g.* °/°° *de sempervirine base.*

4° — *Obtention de la gelsémine base*

Le picrate de gelsémine est passé en solution au cours du lavage du mélange des picrates par l'alcool chaud.

On concentre cette solution sous pression réduite sans aller toutefois jusqu'au début de cristallisation à chaud.

On ajoute alors de la lessive de soude jusqu'à réaction alcaline. La solution orangée devient rouge. On la dilue fortement par addition de 3 litres d'eau distillée, puis on épuise par agitation en présence de chloroforme qu'on lave, sèche sur sulfate de sodium anhydre, filtre et évapore sous pression réduite.

On obtient une mousse brun-rouge qui, en présence d'un peu d'acétone, cristallise brusquement et abondamment.

On ajoute alors de petites quantités d'acétone bouil-

lant pour redissoudre les cristaux formés, filtre et laisse cristalliser.

On obtient de cette façon une gelsémine bien cristallisée en aiguilles blanc jaunâtre au sein d'une liqueur rouge foncé.

On purifie par recristallisation dans l'acétone.

P.F. 178°

Le poids de gelsémine obtenu est de 8,90 g.

soit 1,27 *g.* °/°°.

§ 4. — Comparaison des résultats obtenus dans les deux procédés

Le tableau suivant en rend compte :

	Sempervirine base	*Gelsémine base*
Méthode Ferreira..	0,80 *g.* °/°°	1 *g.* °/°°
Méthode aux picrates	0,78 *g.* °/°°	1,27 *g.* °/°°

Il apparaît que les rendements en sempervirine base sont sensiblement les mêmes en quantité et qualité.

En revanche, nous obtenons un chiffre un peu plus élevé pour la gelsémine.

§ 5. — Application de la méthode d'extraction aux picrates
Evaluation de la teneur d'une poudre en alcaloides

Les essais précédents ont montré qu'il était facile d'évaluer grossièrement la richesse en alcaloïdes d'une préparation de Gelsemium en se basant sur le poids des picrates bruts extraits.

Nous avons alors pensé qu'il serait utile d'effectuer différents modes d'épuisement de la poudre de Gelsemium

qui nous restait, dont la valeur était à déterminer, et de comparer les rendements de ces opérations.

1° — *Epuisement de la poudre de racines de Gelsemium par l'alcool à 95°*

100 g. de cette poudre sont mis à bouillir à reflux pendant 48 heures avec 500 cm³ d'alcool à 95°.

On filtre et concentre sous pression réduite.

Par addition de 1 g. d'acide picrique à cette liqueur concentrée, on n'obtient, après séjour à la glacière, qu'un louche fort léger.

Un résultat semblable fut constaté à partir d'une teinture de GELSEMIUM du commerce.

Ainsi la quantité d'alcaloïdes extraite par ce procédé est pratiquement nulle : les alcaloïdes ne sont pas libres et directement entraînables par l'alcool fort.

2° — *Epuisement par l'alcool à 95° de la poudre de Gelsemium préalablement alcalinisée*

200 g. de poudre de racines de GELSEMIUM sont mélangés au mortier avec 20 g. de carbonate neutre de sodium sec en poudre.

On introduit le produit dans un ballon et fait bouillir à reflux pendant 48 heures en présence d'alcool à 95° (1 litre, 500 cm³ et 500 cm³). L'alcool se colore en brun foncé avec fluorescence nette ; on filtre, puis concentre sous pression réduite la liqueur obtenue en réservant les premières portions plus concentrées.

On obtient finalement une pâte noire épaisse qu'on épuise systématiquement à chaud au moyen d'une solution aqueuse d'acide formique à 2 % jusqu'à ce que les solutions extractives acides ne précipitent plus par addition de réactif de MAYER-VALSER. On alcalinise ensuite à l'ammoniaque ces solutions acides réunies et épuise au chloroforme qu'on lave, sèche sur sulfate de sodium anhydre, filtre et évapore sous pression réduite.

Le résidu est dissous dans le minimum d'alcool à 95°, puis on ajoute à cette solution une solution alcoolique d'acide picrique jusqu'à cessation de précipité.

On essore après séjour à la glacière.

On sèche et pèse :

Poids : 0,23 *g. soit* 1,15 *g.* °/°° *de picrate brut*

3° — *Epuisement chloroformique de la poudre de Gelsemium préalablement alcalinisée*

On effectue cette opération sur 200 g. de poudre préalablement humectée avec une quantité suffisante de solution de carbonate neutre de sodium à 10 %.

La poudre ainsi traitée est placée dans un soxhlet et épuisée au chloroforme jusqu'à ce que le solvant s'écoule incolore.

On évapore cet extrait chloroformique et fait un épuisement acide à chaud sur le résidu comme dans l'opération précédente. On alcalinise, épuise au chloroforme qui est évaporé.

Le résidu, repris par 10 cm^3 d'alcool à 95°, donne, en présence d'acide picrique, un précipité abondant, qui est recueilli après séjour à la glacière.

Rendement : 3,90 *g.* °/°° *de picrate brut*

4° — *Conclusion*

La comparaison des résultats obtenus au cours de ces opérations conduit à une conclusion identique à celle de Ferreira qui préconisait déjà l'extraction à chaud dans un appareil à épuisement continu en employant comme solvant le chloroforme, la poudre étant préalablement alcalinisée.

La totalité de la poudre de racines de Gelsemium mise à notre disposition fut donc traitée de cette façon, et sur l'extrait chloroformique obtenu, nous avons répété plusieurs fois l'extraction des alcaloïdes suivant les principes exposés au § 3.

Nous avons pu, de cette façon, perfectionner progressivement la méthode et mettre au point un procédé un peu différent qui a surtout l'avantage de permettre l'isolement d'un troisième alcaloïde cristallisé.

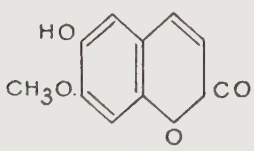
§ 6. — Modifications apportées a la méthode aux picrates

Nous exposerons successivement dans ce paragraphe les modifications que nous avons cru devoir apporter.

1re Modification

Etude de l'élimination de l'acide gelsémique

En dehors des alcaloïdes, la plante contient de l'acide gelsémique identifié par Schmidt (20) comme étant la β-Méthylesculétine.



Il se présente sous forme de belles aiguilles incolores et insipides, sublimables sans décomposition un peu au-dessus de 100°.

Il est peu soluble dans l'eau froide, mais beaucoup plus à chaud. Il est très soluble dans l'éther, le chloroforme, l'alcool. Il est également soluble dans les solutions ammoniacales.

Toutes ces solutions, même très diluées, sont intensément fluorescentes, jaunes par transmission, bleues par réflexion.

Les auteurs précédents éliminaient cette substance par agitation, en présence de chloroforme, des solutions acides contenant les alcaloïdes à l'état de sels.

Nous avions ainsi des solutions chloroformiques laissées par Ferreira, auxquelles nous avions ajouté des fractions semblables obtenues au cours de nos premières extractions.

Par évaporation, sous pression réduite, elles donnent un vernis noir très épais. Ce vernis pouvait contenir des sels d'alcaloïdes solubles dans le chloroforme.

C'est pourquoi il fut traité au bain-marie, par l'eau, à plusieurs reprises. Les solutions obtenues laissent déposer par refroidissement des aiguilles jaunâtres d'acide gelsémique, qu'il est facile d'identifier après essorage et recristallisation dans l'eau. Une filtration permet donc d'éliminer des solutions extractives la plus grosse partie de l'acide gelsémique très peu soluble à froid.

Le filtrat étudié présente la propriété de précipiter très abondamment par addition d'ammoniaque et par le réactif de Mayer-Valser, ce qui confirmait la présence supposée d'alcaloïdes dans cette fraction que les auteurs écartaient au cours de leurs procédés d'extraction.

Il est donc nuisible d'essayer d'éliminer l'acide gelsémique de cette façon, puisqu'en le faisant on entraîne une fraction non négligeable d'alcaloïdes dont les sels sont solubles dans le chloroforme.

C'est pourquoi nous supprimerons désormais cette opération, la présence de l'acide gelsémique ne gênant pas la précipitation des alcaloïdes par l'acide picrique.

La détermination des alcoïdes contenus dans cette fraction a fait l'objet d'une étude spéciale qui fut réalisée après l'isolement du troisième alcaloïde, car nous avons pensé que cet alcaloïde pouvait précisément accompagner l'acide gelsémique dans son élimination (Chap. II, § 3, p. 27).

2e Modification

La deuxième modification se place tout au début de l'extraction. Elle apporte une simplification non négligeable.

Nous avons supprimé en effet la 2e extraction chloroformique à partir des solutions acides contenant les sels des alcaloïdes et la précipitation des picrates d'alcaloïdes en milieu alcoolique.

La technique primitive pouvait se schématiser de la façon suivante :

Extrait chloroformique concentré

↓

Solution aqueuse de formiates d'alcaloïdes
+ NH_4 OH
épuisement chloroformique

↓

Ext. chloroformique du totum alcaloïdique
évaporation

↓

Solution alcoolique
+ solution alcoolique d'acide picrique

↓

Picrates bruts

Désormais nous ajoutons directement une solution aqueuse saturée d'acide picrique à la solution aqueuse de formiates d'alcaloïdes.

Le précipité de picrate se forme instantanément.

On laisse déposer et essore au fur et à mesure. Le gâteau de picrates, séché à basse température, est ensuite traité par l'alcool chaud pour effectuer la séparation des différents picrates.

Le schéma de cette opération ainsi simplifiée est alors le suivant :

Extrait chloroformique concentré

↓

Solution aqueuse de formiates d'alcaloïdes
+ solution aqueuse saturée d'acide picrique

↓

Picrates bruts.

Voici d'ailleurs les détails techniques d'une extraction complète réalisée suivant ce schéma.

— Un extrait chloroformique fut d'abord préparé à partir de 12 kg. de poudre de GELSEMIUM alcalinisée par le carbonate neutre de sodium, puis concentré sous pression réduite comme d'habitude.

Le résidu obtenu est épuisé à chaud au bain-marie en milieu formique. Les solutions acides extractives, refroidies, abandonnent une partie de l'acide gelsémique qui cristallise le long des parois des récipients.

On filtre et ajoute au filtrat une solution aqueuse saturée d'acide picrique.

Dans ces opérations, on a employé environ 15 litres d'une solution aqueuse d'acide formique à 2 %, l'épuisement ayant été arrêté quand l'addition de réactif MAYER-VALSER n'amenait qu'un louche insignifiant.

On y a ajouté environ 5 litres de solution aqueuse saturée d'acide picrique.

On laisse le précipité de picrate floculer et se déposer convenablement, puis on essore.

On obtient un picrate brut de couleur orangée avec des parties plus claires.

Poids : 45,70 g.

On traite ensuite ce picrate brut avec 2 litres d'alcool à 95°, à chaud, employés en quatre fois.

On obtient 11,20 g. de picrate jaune pâle insoluble.

P.F. 289°

Les premières portions du filtrat de ce picrate précipitent presque immédiatement par refroidissement et nous avons séparé un deuxième picrate plus foncé.

Poids : 2,50 g. P.F. 187-188°

Un troisième picrate reste en solution et se dépose, par concentration de la solution, en petits cristaux orangés.

P.F. 194°

Le poids de ce picrate est donné par différence à partir du poids du picrate total :

32 g.

On décompose ensuite chacun de ces picrates suivant le mode habituel.

— Le 1er picrate donne 5,80 g. de sempervirine qui cristallise dans le chloroforme en aiguilles rouge foncé.

— Le 3e picrate soluble dans l'alcool fournit après décomposition 17,10 g. de gelsémine encore impure que l'on fait recristalliser dans l'acétone. On obtient ainsi de belles aiguilles blanches de P.F. 178°.

— Le 2e picrate, qui présentait une solubilité plus faible dans l'alcool à chaud, a retenu plus longuement notre attention.

Nous l'avons décomposé comme les autres picrates au moyen d'une solution de potasse dans l'alcool méthylique. Le filtrat alcalin contenant la base a été dilué et épuisé au chloroforme.

Nous avons obtenu de cette façon un vernis brun-rouge qui ne donnait aucune cristallisation en présence d'acétone.

Nous avons procédé alors à une nouvelle purification de cette base inconnue par passage à l'état de sel, à partir duquel la base fut de nouveau régénérée.

Malgré ce traitement, aucune cristallisation ne fut

observée dans l'acétone. De plus, la base considérée semblait insoluble dans l'éther. En effet, sa solution chloroformique précipitait par addition d'une quantité suffisante d'éther.

Un chlorhydrate de cet alcaloïde fut alors préparé par action de l'acide chlorhydrique sur une solution alcoolique de la base ; on obtient de cette façon 1,30 g. d'un chlorhydrate très bien cristallisé en petites rosettes incolores.

P.F. 300°.
Pas d'action en solution aqueuse sur la lumière polarisée.

Ces deux constantes physiques sont identiques à celles du chlorhydrate de gelsémine.

Nous avons alors tenté d'établir d'une façon plus précise la nature de cet alcaloïde, dont le chlorhydrate présentait les caractères physiques du chlorhydrate de gelsémine, mais qui, à l'état de base, au moment de sa préparation, différait de la gelsémine par les trois propriétés suivantes :

— 1° Pas de cristallisation dans l'acétone.

— 2° Insolubilité dans l'éther et floculation de la solution chloroformique par addition d'éther.

— 3° Possibilité de cristallisation dans un mélange chloroforme-éther en proportions convenables.

Les expériences suivantes furent alors faites :

A/. — 0,10 g. de ce chlorhydrate sont dissous dans l'eau. On déplace la base par l'ammoniaque et extrait au chloroforme. On évapore. Le vernis obtenu ne cristallise pas spontanément dans l'acétone. On en fait une solution chloroformique que l'on additionne progressivement d'éther. Un floculat blanc apparaît bientôt, que l'on redissout à chaud. On bouche alors soigneusement le flacon et en quelques jours des cristaux incolores et relativement gros apparaissent.

B/. — Nous avions préparé au début de ce travail du chlorhydrate de gelsémine par addition d'acide chlorhydrique à une solution alcoolique de gelsémine base. Cette solution avait été ensuite concentrée à chaud en milieu légèrement acide jusqu'à début de cristallisation.

0,10 g. de chlorhydrate de gelsémine ainsi préparé sont traités de la même façon qu'en A/. La base isolée présente alors les caractères différentiels constatés pour cet alcaloïde indéterminé.

Il faut donc admettre que la gelsémine a subi une altération au cours de la préparation de son chlorhydrate et nous avons été conduit à penser qu'il s'agissait d'un alcaloïde dérivé de la gelsémine tel que l' « apogelsémine » décrite par Moore (17). En effet, cet auteur prépare l'apogelsémine par chauffage de la gelsémine en milieu acide.

Il obtient de cette façon une base qui n'a pu être cristallisée et qui est insoluble dans l'éther.

C/. — Nous avons ensuite préparé un chlorhydrate de gelsémine à froid par addition d'acide chlorhydrique à une solution concentrée d'un échantillon prélevé sur la gelsémine obtenue à partir du 3e picrate de cette extraction.

0,10 g. de ce chlorhydrate servent à la même expérience et permettent de régénérer une base qui possède les caractères classiques de la gelsémine :

{ Cristallisation dans l'acétone.
{ Solubilité dans l'éther.

D/. — La totalité du chlorhydrate de cet alcaloïde obtenu par décomposition du 2e picrate a été traitée de façon à régénérer la base. Nous voulions en effet la faire cristalliser dans un mélange éther-chloroforme ainsi que nous l'avions fait pour l'échantillon dont il a été question plus haut. Nous avons alors constaté qu'un séjour assez long de la base au contact des solvants suffisait à lui rendre le caractère de la gelsémine et qu'il était alors possible d'obtenir une belle cristallisation dans l'acétone.

Conclusion. — Il semble qu'une partie de la gelsémine contenue dans la plante ait subi une certaine modification au cours de l'extraction, et peut-être, en particulier, pendant l'épuisement de l'extrait chloroformique concentré au moyen de solutions aqueuses acides à chaud. Cette phase de l'opération rappelle le procédé employé par Moore pour la préparation de « l'apogelsémine » à partir de la gelsémine (chauffage en milieu acide).

Le produit obtenu présente au moment de son isolement des caractères différents de ceux de la gelsémine, mais sa stabilité paraît contestable, car cette base reprend les caractères de la gelsémine au cours d'un séjour de quelques semaines en présence de solvant.

Pour éliminer cette cause d'erreur, nous avons modifié cette étape de l'extraction des alcaloïdes et adopté la

méthode suivante que nous considérerons pour l'instant comme définitive.

Il nous restait un extrait chloroformique correspondant à 11 kg. de plante, d'un volume de 1.500 cm^3.

Cet extrait fut épuisé à froid par fractions dans une grande ampoule à décantation par agitation en présence de solutions aqueuses acides (solution aqueuse d'acide formique à 2 %).

On obtint 15 litres de ces solutions extractives et l'épuisement était pratiquement complet. Ces solutions, contenant les alcaloïdes à l'état de sels, furent traitées ensuite sans changement par addition d'une solution aqueuse saturée d'acide picrique.

On obtint de cette façon 41,50 g. de picrate brut, qui, convenablement pulvérisé, fut traité par l'alcool à 95° à chaud (2 litres).

Ce fractionnement du picrate brut a donné cette fois le bilan suivant :

— 1° 10,80 g. d'un picrate insoluble jaune pâle :

P.F. 288°-289°

— 2° 0,90 g. d'un picrate jaune orangé, précipitant dans le filtrat alcoolique, mais remis en solution par addition d'une nouvelle quantité d'alcool.

P.F. 192°-193°

— 3° Le reste du filtrat alcoolique contient en solution le picrate de gelsémine. Par évaporation d'une prise d'essai, nous obtenons des cristaux d'un picrate orangé.

P.F. 195°

La régénération des bases correspondant à ces picrates a été effectuée cette fois sans tenir compte du 2e picrate qui a été traité en même temps que le picrate de gelsémine.

Les quantités d'alcaloïdes extraites ont été les suivantes :

Sempervirine base : 4,95 g., soit 0,45 g. °/°°.

Gelsémine base : 16,50 g., soit 1,50 g. °/°°.

CHAPITRE II

EXTRACTION D'UN TROISIÈME ALCALOIDE CRISTALLISÉ

§ I. — Généralités sur l'extraction de la Gelsémicine

En plus des alcaloïdes généralement décrits, T.-Q. Chou (3) avait isolé, en 1931, une base nouvelle cristallisée à laquelle il avait donné le nom de « Gelsémicine ».

Il décrivait son procédé d'extraction dans le *Chinese Journal of Physiology*. Ferreira n'ayant pu se procurer ce document, avait eu recours au bref résumé paru dans le *Chemiches Zentralblatt*, et dont voici les données essentielles :

La gelsémicine, plus soluble que la gelsémine dans l'acétone, se trouve dans les eaux-mères de cristallisation de celle-ci. On peut se débarrasser de la gelsémine résiduelle en la précipitant en milieu alcoolique à l'état de bromhydrate, le bromhydrate de gelsémicine restant en solution dans l'alcool.

Cette solution alcoolique est évaporée à sec ; le résidu, constitué par un bromhydrate soluble, est repris par l'eau.

On déplace ensuite la base de ce sel en milieu aqueux par addition de carbonate neutre de sodium, épuise au chloroforme, distille la solution chloroformique et fait cristalliser la base résiduelle ainsi extraite dans l'acétone.

La recherche de cet alcaloïde semblait en outre facilitée par la possibilité d'examens polarimétriques, puisque Chou indiquait pour la gelsémicine un pouvoir rotatoire gauche de — 140° dans l'alcool, alors que dans ces conditions la gelsémine n'a pas d'action sur la lumière polarisée.

En appliquant ce procédé, Ferreira ne put jamais, au cours de ses recherches, mettre en évidence la présence de cet alcaloïde et les lectures polarimétriques de ses liqueurs furent toujours nulles.

Quoi qu'il en fût, nous avons tenté à notre tour l'extraction de cet alcaloïde en utilisant des procédés différents, retenant seulement des données de Chou, que la gelsémicine, s'il y en avait, devait se trouver dans les eaux-mères de la gelsémine.

§ 2. — Traitement des eaux-mères de la gelsémine par chromatographie

Nous possédions des quantités assez importantes de ces eaux-mères provenant des travaux de Ferreira et des extractions personnelles.

Nous les avons concentrées pour en retirer par cristallisation la plus grosse quantité de gelsémine récupérable. Il faut remarquer que cet alcaloïde cristallise facilement et donne un produit relativement pur même au sein d'une eau-mère presque noire. On cesse de concentrer quand la liqueur épaisse ne donne plus de cristallisation après amorçage avec quelques aiguilles de gelsémine pure.

On évapore finalement à sec sous pression réduite.

Nous ne pouvions savoir évidemment à quoi correspondaient ces eaux-mères laissées par Ferreira, mais à titre d'indication nous pouvons dire que les eaux-mères acétoniques de 17,10 g. de gelsémine, correspondant à 12 kg. de plante, laissent un résidu de 8 g. environ.

Nous avons finalement réuni la totalité de ces vernis de couleur brun rouge très foncé.

Poids total : 25 *g.*

Pour séparer les différents constituants de ce vernis amorphe nous avons employé la méthode chromatographique.

A. — *Chromatographie*

On utilise un tube de verre de 2 cm. de diamètre et de 20 cm. de long, dont la partie inférieure se termine par un étranglement auquel est soudé un tube court taillé en biseau à son extrémité. Cet appareil est monté sur une tulipe verticale munie d'une tubulure latérale. L'extrémité de la tulipe plonge dans des récipients dont la capacité varie avec le volume des liquides à recueillir. Ce système nous

permet de changer rapidement ces récipients sans interrompre la dépression.

On place un petit tampon de coton assez serré dans l'extrémité inférieure étranglée de la colonne que l'on remplit ensuite lentement avec de l'alumine spéciale pour chromatographie. Ce remplissage doit être fait très régulièrement en s'aidant du vide de la trompe à eau, pour assurer le tassement de la poudre. On complète d'ailleurs ce tassement en frappant de petits coups tout le long de la colonne, une fois celle-ci complètement remplie. La quantité d'alumine employée dans cette opération est de 25 à 30 g. Le poids du produit à chromatographier dépend du poids d'alumine, car il faut éviter de surcharger une colonne, la sélection se faisant alors moins bien. Avant l'emploi on imbibe la colonne d'alumine avec du chloroforme jusqu'à ce que celui-ci s'écoule à la partie inférieure.

On verse ensuite une solution chloroformique d'une quantité connue du produit à chromatographier. Cette solution doit être le plus concentré possible pour que la totalité en soit versée avant que ne s'écoule à la partie inférieure la première phase de la chromatographie. On ajoute ensuite du chloroforme pour éluer par différence de solubilité les différents constituants du mélange. Mais bien que tout le produit soit soluble à l'origine dans le chloroforme, il reste sur l'alumine des fractions qui ne peuvent plus être éluées à l'aide de ce solvant employé seul. On utilise alors successivement du chloroforme additionné de 10 % d'alcool méthylique, puis de 20 %, 50 %, et enfin de l'alcool méthylique pur.

L'éluat s'écoulant à la partie inférieure, on peut alors en recueillir des volumes identiques dans une série de tubes gradués et évaluer la richesse de ces fractions par pesée de leurs extraits secs. On détermine aussi le pouvoir rotatoire de chaque fraction, si toutefois la coloration de la solution le permet.

Quand le chromatogramme est particulièrement net, ce qui se présentait dans le cas qui nous occupe, il est avantageux d'effectuer le fractionnement de l'éluat d'après les zones colorées et les différents anneaux formés.

On obtient finalement une série de produits dont certains peuvent être intéressants et qui sont débarrassés en grande partie des impuretés qui les accompagnaient précédemment.

B. — *Mode opératoire*

Une fraction de 1,50 g. de résidu sec, obtenu comme il a été décrit, à partir de la solution acétonique de cristallisation de la gelsémine est dissoute dans 20 cm^3 de chloroforme.

On chromatographie sur 25 g. d'alumine. On obtient une colonne dont l'aspect est le suivant de haut en bas :

1° Une zone brun foncé de 1/2 cm. d'épaisseur ;

2° Une zone plus claire ;

3° Un groupe d'anneaux assez mal séparés, où l'on distingue cependant au sein d'une teinte de fond brune des zones étroites et violettes ;

4° Une zone très claire ;

5° Un groupe de 2 anneaux jaune orangé nettement séparés par une zone plus pâle de 1/4 de cm.

On recueille des fractions de volume variable suivant ce chromatogramme coloré très précis. En observant la courbe des poids des extraits secs, on constate que les zones les plus riches sont celles des anneaux de tête, jaune orangé, éluées au chloroforme seul, et celle du sommet de la colonne, pour laquelle l'élution est faite avec addition de 10 % d'alcool méthylique.

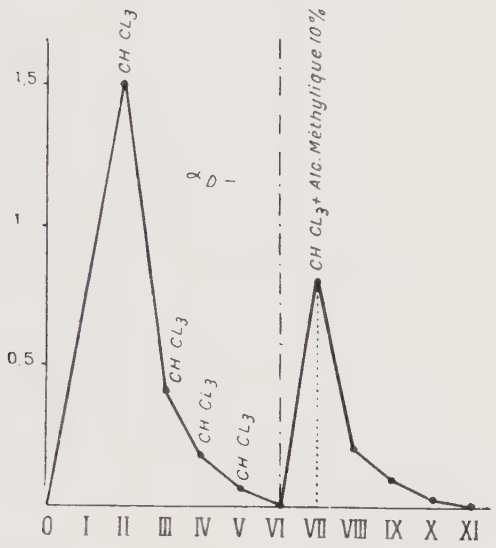
I/ Elution chloroformique des 2 anneaux orangés qu'il est impossible de dissocier.

II, III, IV, V, VI/ Elution chloroformique de la zone intermédiaire moins colorée poursuivie jusqu'à ce que le chloroforme n'entraîne plus rien.

VII/ Elution chloroformique additionnée de 10 % d'alcool méthylique. La partie brune du sommet se détache formant un anneau presque noir. L'éluat passe coloré en brun foncé.

VIII/ Elution chloroformique additionnée de 20 % d'alcool méthylique. La coloration brune de l'éluat va en s'estompant.

IX, X, XI/ Elution chloroformique additionnée de 50 % d'alcool méthylique, puis élution avec alcool méthylique pur. Certains petits anneaux qui n'avaient pas encore été entraînés sont élués, mais ne correspondent pas à une quantité de produit susceptible d'être isolé.



Ces différentes fractions ayant été isolées, il a été possible d'effectuer une lecture polarimétrique sur les plus claires d'entre elles (de I à VI), et c'est ainsi que nous avons trouvé un pouvoir rotatoire gauche pour la solution I, la déviation s'atténuant au fur et à mesure pour les solutions II, III, IV, V et VI, moins chargées en principes actifs.

Cette indication était précieuse, puisque seule la gelsémicine est douée d'un fort pouvoir rotatoire gauche.

Nous avons alors chromatographié de la même façon la totalité du résidu sec des eaux-mères de la gelsémine par fractions de 1,50 g. sur des colonnes d'alumine de 25 g.

Chaque fois nous avons obtenu des chromatogrammes semblables et les fractions correspondantes furent réunies.

Les fractions douées de pouvoir rotatoire furent concentrées et chromatographiées de nouveau jusqu'à ce qu'il soit impossible d'obtenir un fractionnement plus grand par ce procédé.

La solution chloroformique finale du produit gauche fut alors épuisée à froid par agitation en présence d'une solution d'acide formique à 2 %.

La base déplacée par alcalinisation à l'ammoniaque fut extraite au chloroforme.

Le vernis obtenu par évaporation de ce chloroforme pesait 8 g. environ.

Pouvoir rotatoire : $\frac{-1{,}16 \times 5}{1 \times 0{,}08} = -72°{,}5$ dans le chloroforme.

Divers essais de cristallisation de ce vernis dans des solvants variés n'ont pas donné de résultats.

C'est pourquoi nous avons préparé le dérivé benzoylé de ce produit, puisqu'il était signalé que la gelsémicine donnait facilement ce dérivé bien cristallisé (7).

C. — *Benzoylation de cette fraction amorphe à pouvoir rotatoire gauche*

Les 8 g. de produit sont dissous dans 70 cm³ de chloroforme. On filtre la solution obtenue dans une fiole conique bouchant émeri et ajoute 10 cm³ de lessive de soude pure.

Il se produit un précipité granuleux blanchâtre dans la couche aqueuse. On verse alors peu à peu 7 g. de chlorure de benzoyle dissous dans 20 cm³ de chloroforme en agitant constamment. On bouche ensuite hermétiquement et agite mécaniquement pendant 8 heures.

On obtient une liqueur fortement émulsionnée. On centrifuge ensuite, décante la couche alcaline, et lave la solution chloroformique avec trois fois 100 cm³ d'eau distillée. La réaction est alors à peine alcaline.

On épuise alors avec 700 cm³ ClH.N/10 employés en trois fois, ceci dans le but d'éliminer un alcaloïde éventuel n'ayant pas subi la benzoylation.

On lave à l'eau après cet épuisement acide.

Les eaux de lavage alcalines, l'épuisement acide, les eaux de lavage final sont agitées deux fois et dans un ordre différent chaque fois avec 100 cm³ de chloroforme. Les émulsions stables formées au cours de ces opérations sont détruites par centrifugation. On ajoute ce chloroforme à la liqueur chloroformique de benzoylation. On sèche sur sulfate de sodium anhydre et concentre sous pression réduite.

On laisse les dernières portions s'évaporer lentement dans une capsule. Une abondante cristallisation apparaît peu à peu. On essore et recristallise dans l'alcool à 95°, deux fois de suite.

On obtient de cette façon un très beau produit inco-

lore bien cristallisé, dont les constantes physiques sont les suivantes :

Point de Fusion : 257-258°

Pouvoir rotatoire : (solution chloroformique) :

$$\frac{-1^{\circ},30 \times 10}{2 \times 0,0553} = -117^{\circ},54 \qquad t^{\circ} = 18^{\circ}$$

Bilan final : 2,50 g. *de produit*

Nous avons traité d'autre part les solutions acides employées pour éliminer la fraction alcaloïdique qui n'aurait pas été benzoylée.

Ces solutions sont alcalinisées à l'ammoniaque, puis épuisées au chloroforme. Ce dernier, séché et évaporé, laisse un résidu incristallisable dans l'acétone. Nous l'avons cependant laissé en contact avec ce solvant. Au bout de quelques jours, de beaux cristaux incolores apparaissent, qui furent purifiés par recristallisation dans l'acétone, immédiate cette fois.

Le point de fusion de ces cristaux est de 178-179° avec boursouflement caractéristique à 110-°120° (élimination de l'acétone de cristallisation).

Il s'agit donc de gelsémine qui, ne donnant pas de dérivé benzoylé, a été éliminée au cours de cette extraction acide, mais il faut remarquer que cette benzoylation semble provoquer dans la structure de la gelsémine une modification réversible comparable à celle que nous avons constatée au cours des extractions et dont la nature n'a pu encore être élucidée.

D. — *Hydrolyse du dérivé benzoylé Obtention de la base*

Il fallait obtenir par hydrolyse la base cristallisée correspondant à ce dérivé benzoylé.

Nous avons suivi la technique décrite par les auteurs déjà cités (7).

Dans un ballon à col rodé surmonté d'un réfrigérant à reflux, on introduit 1 g. de ce benzoyl-alcaloïde. On le dissout dans 100 cm^3 d'alcool à 95° à chaud et ajoute 100 cm^3 SO_4H_2. 10N.

On fait bouillir à reflux pendant quatre heures.

Après ce temps, on distille sous pression réduite l'alcool de la solution en remplaçant au fur et à mesure le volume de liquide distillé par un égal volume d'eau afin d'éviter une concentration nuisible en acide.

Puis, on neutralise la solution privée d'alcool et passe en milieu alcalin par addition d'ammoniaque. La solution ne précipite pas, mais jaunit légèrement.

On épuise l'éther qu'on lave, sèche sur sulfate de sodium anhydre et filtre. L'évaporation de ce solvant donne un résidu que l'on reprend par l'acétone.

Il ne se produit qu'une cristallisation insignifiante.

Nous avons alors purifié ce produit par chromatographie en solution chloroformique sur 20 g. d'alumine.

On recueille un éluat chloroformique un peu jaune.

Cette solution est évaporée et le résidu repris par l'acétone. Il se produit une cristallisation immédiate, mais les cristaux formés sont instables et deviennent rapidement cireux.

Le point de fusion fut cependant pris : 164°.

En faisant recristalliser très lentement ces cristaux dans l'acétone, on obtient des cristaux beaucoup plus gros et plus stables

Point de fusion : 172°

E. — *Analyses*

1° *Dérivé benzoylé.* — P.F. 257°-258°

Poids substance mg.	H_2O	CO_2	H %	C %
22,53	13,52	58,83	6,716	71,26
20,59	12,47	53,99	6,778	71,55

	N %
20,63	6,328
20,20	6,363

Calculé pour la formule : $C_6H_5CO\text{-}C_{19}H_{25}O_3N_2$.

H %	C %	N %
6,95	71,86	6,44

2° *Base cristallisée.* — P.F. 172°.

Poids substance mg.	H_2O	CO_2	H %	C %	N %
18,25	12,43	45,68	7,622	68,31	8,464

Calculé pour la formule : $C_{19}H_{26}O_3N_2$.

H %	C %	N %
7,93	69,06	8,47

Ces résultats analytiques et la formule qui en a été déduite ne sont pas en accord avec la formule brute de la gelsémine proposée par T.-Q. Chou ($C_{20}H_{25}O_4N_2$) et celle de Forsyth, Marrian et Stevens ($C_{20}H_{24}O_4N_2$).

Cependant, la concordance des points de fusion de la base laisse supposer que nous sommes en présence de gelsémicine.

Une conclusion ne sera possible que lorsque la structure de cet alcaloïde sera définitivement précisée.

Nous proposons donc pour ce troisième alcaloïde la formule :

$$C_{19}H_{26}O_3N_2$$

§ 3. — Traitement d'une solution chloroformique d'acide gelsémique

Nous avons dit précédemment que l'élimination de l'acide gelsémique, telle que la pratiquaient les précédents auteurs, avaient l'inconvénient d'entraîner en même temps une portion non négligeable d'alcaloïdes dont les sels étaient solubles dans le chloroforme.

Ferreira avait laissé une solution chloroformique concentrée résultant de l'évaporation de quelques éliminations d'acide gelsémique qu'il avait pratiquées. De ce fait, il nous est impossible de dire à quelle quantité de plante correspond cet extractum.

C'est l'étude de cette fraction que nous exposerons maintenant.

Technique

La solution, dont il est question, est évaporée à sec sous pression réduite et le vernis épais obtenu est épuisé

systématiquement à l'eau chaude au bain-marie jusqu'à ce que l'on ait pratiquement entraîné en solution tous les sels d'alcaloïdes présents.

Par refroidissement, la solution laisse déposer un précipité jaunâtre d'acide gelsémique qu'on sépare par filtration et dont on vérifie les constantes physiques.

Le filtrat versé dans une grande ampoule à décantation est alcalinisé et épuisé au chloroforme. Le résidu obtenu par évaporation de ce chloroforme est repris par l'acétone. Il n'y a pas de cristallisation.

Poids du résidu : 10 g.

On dissout la totalité de ce résidu dans 40 cm³ de chloroforme pour en effectuer la chromatographie. Cette opération n'a pas permis d'isoler une fraction cristallisable et il n'a pas été possible de faire une lecture polarimétrique sur les différents éluats, les solutions étant trop fortement colorées.

Supposant cependant que, parmi les alcaloïdes présents, il pouvait y avoir une base douée de pouvoir rotatoire semblable à celle décrite précédemment, nous avons soumis l'ensemble du résidu récupéré de la chromatographie, à un essai de benzoylation à froid tel qu'il a été exposé plus haut.

On fait une solution chloroformique du résidu dans 100 cm³ de chloroforme, ajoute 13 cm³ de lessive de soude et 9 cm³ de chlorure de benzoyle.

On agite quatre heures.

Le chloroforme résultant est lavé à l'eau : deux fois 100 cm³, épuisé par ClH. N/10 : 100 cm³, en huit fois, lavé à l'eau : 100 cm³.

On réunit tous ces liquides acides et de lavage et les agite avec 100 cm³ de chloroforme qu'on ajoute au chloroforme de benzoylation.

On sèche ce chloroforme total et le concentre au maximum sous pression réduite. Le résidu obtenu cristallise dans l'alcool à 95°.

Par recristallisation dans le même solvant, on obtient un très beau produit incolore :

Point de fusion : 256°-257°

Pouvoir rotatoire : (solution chloroformique) :

$$\frac{-1{,}16 \times 10}{2 \times 0{,}0496} = -116°{,}9 \qquad t° = 20°$$

Les constantes physiques sont identiques à celles du benzoyl-alcaloïde isolé au cours de l'opération précédente.

Nous n'avons pas tenté de régénérer la base correspondante, le rendement de la technique exposée étant très mauvais.

Nous avons ensuite traité les eaux acides et les eaux de lavage du chloroforme de benzoylation par alcalinisation à l'ammoniaque et épuisement au chloroforme. Nous avons obtenu, comme dans la première benzoylation, un résidu incristallisable immédiatement dans l'acétone et privé de pouvoir rotatoire. Ce résidu laissé en contact avec le solvant cristallise cependant au bout de quelques jours et a été identifié comme étant de la gelsémine.

Conclusion

Les alcaloïdes dont les sels sont un peu solubles dans le chloroforme et qui, de ce fait, étaient entraînés au cours de l'élimination de l'acide gelsémique, ont été identifiés comme étant d'une part la GELSÉMINE, et d'autre part cette troisième base cristallisée dont l'extraction des eaux-mères de la gelsémine vient d'être décrite au paragraphe précédent.

DEUXIÈME PARTIE

ÉTUDE DES ALCALOÏDES DU GELSEMIUM SEMPERVIRENS

1) GELSÉMINE

CHAPITRE PREMIER

GÉNÉRALITÉS ET RAPPEL DES NOTIONS ÉTABLIES

La gelsémine a été relativement beaucoup plus étudiée que la sempervirine. Il est en effet beaucoup plus facile de la préparer dans un grand état de pureté sous forme de base par cristallisations successives dans l'acétone sans risquer, comme nous le verrons pour la sempervirine, l'altération assez rapide du produit.

De formule $C_{20}H_{22}O_2N_2$, la gelsémine cristallise de ses solutions acétoniques sous forme de longues aiguilles incolores retenant une molécule d'acétone de cristallisation.

Quant on prend le point de fusion de cette gelsémine acétonique, on observe à 110° environ un boursouflement caractéristique, qui correspond à la perte de la molécule d'acétone de cristallisation ; il reste un produit blanc qui fond à 178°.

Nous avons préparé très facilement la gelsémine privée d'acétone par chauffage dans le vide à 100-110°. Après deux à trois heures, l'acétone a disparu, le produit est resté incolore, mais les aiguilles brillantes sont devenues ternes.

La gelsémine est soluble dans la plupart des solvants organiques. Elle donne un chlorhydrate qui cristallise dans l'alcool en petites rosettes incolores de P.F. 300°, signalé au cours de l'étude de l'extraction des alcaloïdes.

Les plus anciens travaux exécutés sur la gelsémine sont ceux de Goldner (9) et de Moore (17).

Plus récentes furent les publications de Ferreira (6) et de TT. Chu et TQ. Chou (4).

Les derniers travaux dont nous avons eu connaissance sont ceux de W.-G.-C. Forsyth, S.-F. Marrian, T.-S. Stevens (7) qui font, en y ajoutant leurs travaux personnels,

le bilan de toutes les données acquises. Nous en donnerons un bref résumé.

Ces auteurs décrivent la gelsémine comme étant une base tertiaire, très forte, donnant un titrage net en présence de rouge de méthyle et renfermant un groupe N-méthyle.

Par hydrogénation, l'alcaloïde donne la dihydrogelsémine, et plus lentement, l'hexahydrogelsémine en présence du catalysateur platiné d'Adams. L'apo- et l'iso-apogelsémine semblent résulter d'une hydratation d'une double liaison. Par action du bromure de cyanogène, la gelsémine donne le bromhydrate. Avec le brome, elle donne un composé d'addition.

La fonction des atomes d'oxygène n'a pas encore été élucidée : l'acétyl et la benzoylgelsémine décrites par Moore n'ont pu être préparées de nouveau par les auteurs cités. La gelsémine et ses produits de réduction ne sont pas de nature phénolique et ne renferment pas de groupe méthoxy

Les expériences de dégradation générale n'ont pas donné aux auteurs les résultats souhaités, en particulier différents procédés d'oxydation et la déshydrogénation au Sélénium. A ce propos, est cité un travail de Marion (16) qui a obtenu par cette méthode un peu d'un produit identifié comme étant du diméthylindole. Par déshydrogénation au palladium et distillation sur poudre de zinc, il n'a été obtenu que des produits mal définis et facilement résinifiables dont l'étude ne fut pas poursuivie.

Avant d'exposer nos travaux personnels, nous ferons remarquer que nous avons eu connaissance de l'ensemble de cette publication à une époque où l'étude que nous avions entreprise était déjà fort avancée : ceci expliquera en particulier la présence dans cet exposé d'expériences semblables à celles citées par ces auteurs.

CHAPITRE II

TRAVAUX PERSONNELS

Suivant les techniques déjà publiées, les différents corps suivants ont été préparés, dont les constantes physiques étaient semblables à celles rapportées par les auteurs :

— Gelsémine privée d'acétone.

— Dihydrogelsémine.

— Dibromogelsémine.

— Iodométhylate de gelsémine.

— Iodométhylate de dihydrogelsémine.

= Les essais d'acétylation et de benzoylation ont échoué, ainsi qu'il est mentionné dans les publications postérieures aux travaux de MOORE.

= La déshydrogénation au sélénium a été tentée sur une petite quantité de base privée d'acétone. La réaction commence à 310° environ et cette température a été maintenue pendant vingt minutes. Le produit résultant a été épuisé à l'éther, puis à l'alcool, mais il n'a pas été possible d'isoler une fraction cristallisable en quantité suffisante pour la caractériser. Nous n'avons obtenu que quelques petits cristaux d'une pureté relative P.F. : 170°-171°.

= Un essai de déshydrogénation en présence de charbon palladié n'a pas fourni de produit cristallisé, mais seulement un résidu résinifiable qui n'a pu être purifié par distillation dans le vide.

Nous exposerons maintenant plus longuement une opération qui a permis, semble-t-il, l'identification d'une partie de la molécule de la gelsémine.

Distillation dans le vide du Chlorhydrate de Gelsémine sur Poudre de Zinc

A. — *Principe*

A la méthode connue de distillation des alcaloïdes en présence de poudre de zinc, nous avons apporté la modification qui consiste à opérer dans le vide. Dans ce but et avec la collaboration de M. Chaigneau, un appareil spécial fut réalisé, qui nous a permis d'effectuer cette distillation avec des résultats qui semblent différents de ceux obtenus à la pression ordinaire.

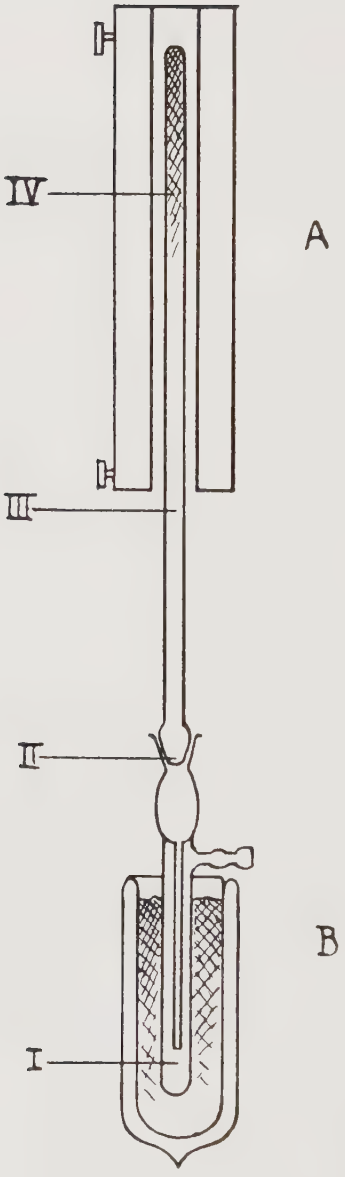
En effet, nous avons isolé à partir du chlorhydrate de gelsémine un produit de dégradation oxygéné, le *β-méthyl-oxindole* ; la présence de cet atome d'oxygène laisse supposer que la méthode employée est moins brutale et permet d'obtenir des produits dont la dégradation est moins poussée, car on sait que l'oxindole distillé sur poudre de zinc à la pression ordinaire se transforme en indole (1).

B. — *Appareil*

Un tube de verre Pyrex épais A, de 35 cm. de long et de 1,5 cm. de diamètre, clos à une extrémité, est relié par l'intermédiaire d'un rodage très bien ajusté à un appareil B, dont la figure donne les dimensions et une description suffisante, et qui a pour but de condenser les produits volatils provenant de la distillation. Pour cela, cet appareil B est plongé dans un mélange réfrigérant contenu dans un vase de Dewar. Une tubulure latérale permet d'effectuer le vide dans l'ensemble du montage au moyen d'une pompe à palette qui assure un vide primaire, complété ensuite par une trompe à mercure jusqu'au centième de millimètre. Une ampoule contenant de l'anhydride phosphorique est placée dans le circuit. L'extrémité du tube A contenant le mélange alcaloïde-poudre de zinc est chauffée à l'aide d'un four électrique annulaire.

C. — *Technique et résultat obtenu*

Etant donné que nous possédions des quantités assez importantes de gelsémine, nous avons pu consacrer à cette distillation 10 g. du chlorhydrate de l'alcaloïde, en exécutant


IV
A
III
II
B
I

10 opérations successives portant chaque fois sur 1 g de produit.

Nous décrirons l'une de ces opérations :

— On dessèche sous vide sur P_2O_5, 1 g. de chlorhydrate de gelsémine et 25 g. de poudre de zinc. On broie au mortier et mélange intimement l'alcaloïde avec 15 g. environ de poudre de zinc. On introduit le mélange dans le tube A, ajoute le reste de la poudre de zinc en tassant légèrement, puis place en dernier lieu un petit tampon de coton de verre.

On ajuste le rodage sur le condenseur B, et laisse vingt-quatre heures sous vide poussé. L'ampoule d'anhydride phosphorique placée en circuit assure la disparition des dernières traces d'humidité.

Après ce temps, on commence à chauffer progressivement ; le réfrigérant B est alors plongé dans un vase de Dewar contenant un mélange neige carbonique-acétone. La trompe à mercure fonctionne pendant toute la durée de l'expérience pour maintenir le plus grand vide possible, malgré le dégagement des gaz, qui commence à 230°.

Les observations et les températures correspondantes ont été notées.

Température	Observations
230°	Dégagement de gaz.
290°	Fumées abondantes.
325°	Apparition de quelques gouttes d'un vernis rouge dans le tube A à la sortie du four.
400°	La quantité de ce vernis augmente un peu, quelques gouttes coulent et se figent dans le tube.

On maintient la température à 400° pendant une demi-heure. Après ce temps, les dégagements gazeux et liquides ont cessé et l'opération est arrêtée. On laisse le tube refroidir, puis démonte l'appareil après avoir fait rentrer l'air très doucement.

On observe :

En I un petit bouchon de cristaux d'eau congelée dans la lumière du tube.

En II et à un niveau inférieur dans la tubulure interne, de très petites gouttes jaunes.

En III un anneau d'un vernis rouge.

En IV un petit bloc compact composé de poudre de zinc agglomérée.

On coupe alors le tube en III immédiatement au-dessus de l'anneau de vernis. On constate une forte odeur ammoniacale et aminée. Le rodage étant très soigneusement dégraissé, on épuise tout ce qui a distillé dans le tube A et le condenseur B au moyen de 20 cm³ d'éther. La solution est d'ailleurs immédiate. D'autre part, on épuise à l'éther la poudre de zinc résiduelle.

On obtient ainsi une solution éthérée rouge vif I.

a) *Epuisement acide*

On agite la solution éthérée I avec SO_4H_2. $N/_{10}$ plusieurs fois jusqu'à ce que la solution extractive soit franchement acide. Cette solution est rouge.

On alcalinise alors à la soude. Il se produit un trouble. On épuise à l'éther. Cet éther II est de nouveau épuisé avec une solution acide $N/_{10}$. Cette solution acide aqueuse concentrée ne donne aucune cristallisation de sulfate. On alcalinise alors et épuise au chloroforme.

Le chloroforme est concentré et le résidu liquide brun-foncé très odorant que l'on obtient est fractionné par distillation sous vide ; à 80° (0,001 mm Hg) passent quelques gouttes d'une substance huileuse brune très odorante, qui furent recueillies et conservées dans un tube scellé pour éviter toute altération.

Etant donné la très faible quantité du produit isolé, il n'a pas été possible d'en faire l'étude chimique ; un examen spectographique dans l'ultra-violet a permis de déceler le spectre de la pyridine.

b) *Epuisement alcalin*

Cet épuisement a été fait au moyen de la soude $N/_{10}$, mais n'a entraîné aucun produit.

c) *Traitement des solutions éthérées I et II*

On mélange ces deux solutions et les sèche sur sulfate de sodium anhydre. On évapore et obtient un résidu amorphe brun rouge d'odeur indolique pesant environ 1 g.

Pour purifier cette fraction et essayer d'isoler un produit cristallisé, nous avons effectué deux chromatographies sur 30 g. d'alumine chaque fois, suivant la méthode déja décrite.

De bas en haut, le chromatogramme est le suivant :

I. — Zone orangée.

II. — Anneau orangé foncé.

III. — Zone orangée plus claire.

IV. — Zone brune au sommet ne s'éluant pas par le chloroforme.

L'évaporation des éluats des zones I et II donne des vernis orangés possédant une forte odeur indolique.

L'éluat de la zone III donne aussi un vernis jaune-pâle d'odeur indolique plus suave, au sein duquel on voit apparaître, en l'absence de tout solvant, des formes cristallines très spéciales. La cristallisation débute à partir d'un point central et s'étend en rosette. L'aspect est celui d'un ensemble de colonies microbiennes. Il est remarquable de constater que ces cristaux ne peuvent se former que lorsque toute trace de solvant a disparu.

Par la suite, en exécutant d'une façon dichotomique de nombreuses chromatographies, il a été possible de purifier et d'enrichir cette fraction cristallisable à partir des éluats I et II.

Cependant, le produit n'a jamais pu être obtenu cristallisé au sein d'un solvant quelconque et, de ce fait, les cristaux sont restés jaune-pâle et cireux.

Ayant eu à ce moment à notre disposition l'appareil à distillation dans le vide poussé de Raoul et Meunier, nous avons effectué la purification par ce procédé : a 70-80°, le réfrigérant se couvre de petites houppes blanches parfaitement cristallisées.

Poids : 0,15 g.
P.F. : 112-113°, tube capillaire.

L'odeur de ce produit est indolique, mais très suave, et rappelle celle du jasmin.

Analyse

Poids substance mg.	CO_2	OH_2	C %	H %
17,68	47,06	10,47	72,64	6,627
20,50	54,79	11,76	72,93	6,420

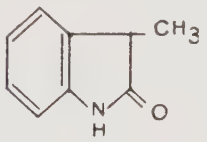
	N %
13,75	9,714
14,36	9,774

Calculé pour la formule : C_9H_9ON.

C %	H %	N %
73,44	6,16	9,52

Le produit indolique oxygéné possédant cette formule C_9H_9ON et un point de fusion identique a été identifié comme étant le :

β MÉTHYL-OXINDOLE



D. — *Synthèse du β méthyl-oxindole*

Cette synthèse a été effectuée d'après K. Brunner (2).

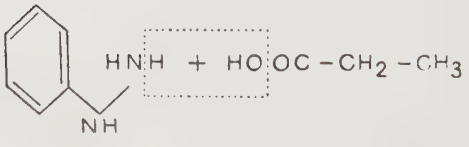
Principe. — On prépare le propionylphénylhydrazide en faisant agir l'acide propionique à chaud sur la phénylhydrazine. Il y a départ d'une molécule d'eau et formation du composé :

$$C_6H_5 - NH - NH - CO - CH_2 - CH_3$$

Par chauffage de ce produit en présence de chaux vive, il y a départ d'ammoniaque et cyclisation, ce qui donne le β méthyl-oxindole.

Technique

1° — *Préparation de la propionylphénylhydrazine*



On mélange 21,60 g. (1/5 Mol.) de phénylhydrazine rectifiée avec 15 g. d'acide propionique (1/5 Mol.) et chauffe au bain d'huile à 130°.

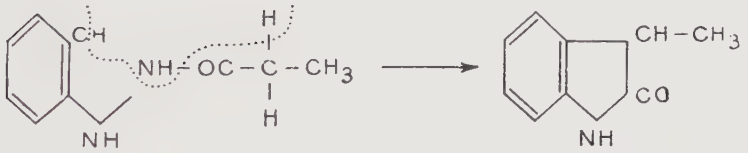
Le mélange entre en ébullition. Il y a dégagement de vapeur d'eau pendant quelques instants. Quand ce dégagement a cessé, on verse le produit dans un mortier. Il cristallise rapidement en une masse rouge vif que l'on pulvérise et lave à l'éther à plusieurs reprises par décantation.

Il reste finalement une poudre blanche que l'on essore et sèche.

P.F. = 155°

Rendement : 70 %

2° — *Cyclisation*



On mélange intimement au mortier 10 g. de propionylphénylhydrazine avec 40 g. de chaux vive fraîchement calcinée.

La poudre est introduite dans une fiole de Fourneau de 100 cm³. On chauffe au bain d'huile sous courant d'azote. A 190°-200°, le dégagement d'ammoniac commence et devient rapidement important. On maintient le bain d'huile à cette température. Après cinquante minutes, le dégagement d'ammoniac est terminé. On laisse refroidir. Le produit obtenu se fragmente facilement. On le reprend dans le minimum d'eau et acidifie avec 240 cm³ d'acide chlorhydrique pur.

On verse la solution obtenue dans une ampoule à décantation et épuise à l'éther plusieurs fois. L'éther est lavé avec une solution aqueuse de carbonate de sodium à 10 %, puis séché sur sulfate de sodium anhydre. On l'évapore à sec et obtient un résidu sirupeux rouge qui, étalé sur les parois du ballon, cristallise en l'absence de tout solvant après vingt-quatre heures. Les cristaux formés ont l'aspect caractéristique signalé au sujet du produit isolé de la gelsémine. L'odeur est indolique. Le produit est alors purifié par chromatographie sur alumine en solution chloroformique. On obtient de cette façon des fractions beaucoup moins colorées, qui cristallisent très rapidement en l'absence de solvant.

Ces fractions furent réunies et leur purification définitive assurée par distillation dans le vide.

On a finalement un produit cristallisé sur le réfrigérant en houppes blanches d'odeur indolique suave, comparable à celle du produit isolé de la gelsémine.

P. F. 114-115°

E. — *Conclusion*

Il paraît suffisamment démontré que le produit isolé de la gelsémine par distillation de cet alcaloïde sur poudre de zinc est identique au β méthyl-oxindole préparé par synthèse.

En effet, l'odeur, le point de fusion, la forme cristalline spéciale qu'ils possèdent tous deux en l'absence de solvant, la façon semblable de les purifier par distillation dans le vide et l'aspect caractéristique en houppes qu'ils prennent sur le réfrigérant au cours de cette purification, semblent être des éléments suffisants pour assurer cette identité.

Il est à remarquer que si l'analyse ne concorde pas très exactement avec la formule proposée, ceci est peut-être dû à la grande difficulté de préparer ce produit dans un état de pureté suffisant pour une micro-analyse, car il est relativement instable comme beaucoup de produits de nature indolique. Les échantillons de ces deux produits que nous avons conservés se sont sensiblement colorés et l'aspect des cristaux est devenu cireux.

L'identité étant admise, l'isolement de cette fraction, sans rendre possible l'édification de la structure complète de la gelsémine, permet du moins de situer la place d'un atome d'oxygène.

Nous n'avons pas renouvelé cette opération pour étendre ces investigations, car bien qu'en opérant dans le vide, la distillation sur poudre de zinc exige des quantités importantes d'alcaloïde pour un rendement faible en produit de dégradation.

Il semble cependant possible d'améliorer ce rendement en utilisant immédiatement, comme nous n'avons pu le faire, la distillation dans le haut vide, pour fractionner et purifier les différents éléments sans passer par des moyens de purification, tels que la chromatographie, qui n'est pas applicable avec succès à des quantités si faibles de produits par ailleurs très altérables.

2) SEMPERVIRINE

CHAPITRE I

ÉTUDE PRÉLIMINAIRE
CRISTALLISATION DE LA SEMPERVIRINE

Hasenfratz attribue à cet alcaloïde cristallisé non oxygéné et coloré la formule :

$$C_{19}H_{16}N_2 + H_2O$$

Il obtient la base en lamelles jaune-orangé ou rouges en traitant par un alcali une solution chaude de son chlorhydrate.

Elle contient une molécule d'eau de cristallisation qu'elle perd à 100°.

P. F. 258-260°

Elle est soluble dans l'alcool et les solutions alcooliques diluées possèdent une fluorescence bleu-violet intense.

Elle est soluble dans le chloroforme, la pyridine, peu soluble dans l'acétone, insoluble dans l'éther et le benzène.

Une trace d'alcaloïde en présence d'acide sulfurique communique à ce liquide une belle fluorescence bleu-violet.

La base en solution chloroformique est sans action sur la lumière polarisée, ce qui n'est pas fréquent pour un alcaloïde naturel.

Tous les procédés d'extraction nous ont donné directement une sempervirine plus ou moins pure à partir d'une solution chloroformique. Quand cette solution atteint une certaine concentration, des aiguilles brun-rouge apparaissent. Après séjour à la glacière, on obtient un feutrage de cristaux.

Au microscope, on observe des amas de longues aiguilles rouge-foncé. Ce produit possède un point de fusion difficilement appréciable car, déjà très coloré, il devient noir au fur et à mesure que la température s'élève, mais ne change pas de forme.

Par recristallisation dans le chloroforme, il n'est guère possible d'obtenir une sempervirine plus pure.

§ I — Préparation du chlorydrate de sempervirine

Nous avons souvent préparé le chlorhydrate de cette base qui est très bien cristallisé et qui peut être facilement purifié.

Nous donnerons l'exemple suivant :

Technique

15 g. de sempervirine brute sont délayés dans 200 cm^3 d'eau distillée. A cette suspension, on ajoute goutte à goutte en agitant, 5 cm^3 de ClH pur. Les cristaux de la base deviennent alors jaune paille et se dissolvent rapidement au bain-marie.

On filtre la solution à chaud, car, comme nous le verrons plus loin, il reste toujours en suspension des particules noires insolubles.

Le filtrat étant maintenu chaud, on verse petit à petit 10 cm^3 de ClH pur, car le chlorhydrate formé est insoluble à froid en milieu chlorhydrique suffisamment concentré (Hasenfratz, *loc. cit.*).

L'addition de cette quantité d'acide chlorhydrique ne produit qu'un trouble léger se redissolvant immédiatement par agitation au bain-marie.

On laisse ensuite refroidir doucement. Il se forme rapidement des amas de très fines aiguilles jaune paille. On achève la cristallisation à la glacière. On essore et obtient ainsi 14 g. de chlorhydrate que l'on fait recristalliser dans l'alcool absolu.

On obtient de cette façon, par évaporation lente, de très belles aiguilles jaune paille groupées en rosette.

P. F. 286°-287°

§ 2 — Préparation de la sempervirine cristallisée dans l'alcool

A partir du chlorhydrate ainsi obtenu nous avons préparé une sempervirine base cristallisée différemment suivant le procédé imaginé par Hasenfratz.

Technique

7 g. de chlorhydrate de sempervirine sont dissous dans 100 cm³ d'alcool à 95° à chaud. On maintient la solution à chaud au bain-marie et ajoute lentement 2,5 cm³ de lessive de soude diluée dans un peu d'alcool.

On agite. La solution jaune clair devient rouge sang. On porte à la glacière. Des lamelles orangées se forment rapidement. On essore et lave avec très peu d'alcool glacé, puis lave ensuite à l'eau tiède, jusqu'à absence de réaction des chlorures dans le filtrat.

On sèche le produit sur anhydride phosphorique.

Poids : 4,60 g.
P. F. 258-260°

Aspect : lamelles losangiques brillantes d'une belle couleur orangée.

§ 3 — Passage de cette forme a la sempervirine cristallisée dans le chloroforme
Observation de l'altérabilité de la sempervirine

Nous avons alors essayé de faire cristalliser cette sempervirine dans le chloroforme pour retourner à la forme cristalline précédemment décrite.

Technique

Nous plaçons 1 g. de sempervirine, préparée comme il vient d'être dit à partir de son chlorhydrate, dans une fiole conique et nous ajoutons du chloroforme très soigneusement rectifié. Aussitôt il se forme de très belles aiguilles jaune d'or au sein d'une liqueur orangé clair. Mais, fait curieux à constater, la solution et les aiguilles formées changent rapidement de teinte et après vingt-quatre heures, la solution est devenue rouge, à peine transparente. Les aiguilles sont devenues rouge sang.

Par ailleurs, nous avions prélevé un échantillon de ces aiguilles jaune d'or immédiatement après leur formation. Nous les avions lavées avec un peu de chloroforme et conservées dans un petit cristallisoir. Après quelque temps la belle teinte jaune est devenue terne.

On note aussi la présence de grains noirâtres au sein des cristaux.

Tout au long des manipulations que nous avons effectuées, nous avons remarqué constamment cette altération rapide de la base cristallisée dans le chloroforme, qu'elle soit sous forme d'aiguilles isolées ou sous forme de solution dans différents solvants.

§ 4 — Essai de purification de la sempervirine pour diminuer son altérabilité Chromatographie

Pensant que la présence d'une impureté tenace, non éliminée au cours de la préparation, favorisait cette altération, nous avons tenté d'effectuer une purification par le procédé chromatographique.

Cette opération fut réalisée de la façon suivante :

Technique

On dissout 1 g. de sempervirine, obtenue dans l'alcool à partir du chlorhydrate, dans le minimum de chloroforme soigneusement rectifié (200 cm³ sont nécessaires, car il se forme, comme il a été dit plus haut, des aiguilles orangé clair qu'il est très difficile de dissoudre).

A ce moment, la solution chloroformique du produit est transparente orangé clair.

La chromatographie a été faite en deux fois.

Première Chromatographie

100 cm³ de solution, soit 0,50 g. de produit, sont passés sur une colonne de 25 g. d'alumine suivant la technique déjà décrite.

On recueille l'éluat par fraction de 20 cm³ dans une série de tubes à essais gradués.

Le chromatogramme présente l'aspect suivant de haut en bas :

1. Anneau noir : 1/2 cm. d'épaisseur ;
2. Plus bas, une zone grisâtre assez mince ;
3. Une large zone orangée claire uniforme ;

4. Précédant cette zone un anneau orangé un peu plus foncé ;

5. Cet anneau est lui-même précédé d'un petit liseré sombre.

Au moment où commence à s'éluer la zone orangée, on recueille des solutions concentrées, car elles cristallisent spontanément et laissent déposer de belles aiguilles jaune orangé.

Ensuite, la concentration de l'éluat diminue peu à peu et les fraction recueillies sont mises à évaporer spontanément à l'air libre.

La zone grise et l'anneau noir du sommet ne purent être éluées au chloroforme, il fallut utiliser l'alcool méthylique.

Nous pensions avoir éliminé ainsi l'impureté responsable de l'altération de la sempervirine.

Deuxième Chromatographie

Le lendemain, nous nous proposions de répéter cette opération sur l'autre moitié de la liqueur. C'est alors que nous avons remarqué le brunissement très particulier de la solution.

Le chromatogramme ne présentait plus cette fois un simple anneau noir à la partie supérieure de la colonne, mais une large zone noire, qui ne put être éluée qu'à l'aide de l'alcool méthylique pur. La solution méthylique de ce produit fournit par évaporation un produit amorphe incristallisable, semblable à l'impureté recueillie au cours de la première chromatographie, mais dont la quantité est cette fois beaucoup plus importante. Ce produit brun-noir s'est donc formé aux dépens de la sempervirine en solution.

Par ailleurs, l'éluat de la première chromatographie mis à évaporer à l'air libre dans un cristallisoir pour éviter toute action nuisible de la chaleur, et qui, au moment de son écoulement, donnait une amorce de belles aiguilles jaune clair, s'est spontanément altéré au cours de cette évaporation et n'a fourni qu'une petite quantité d'aiguilles rouge foncé.

Ces aiguilles recueillies, mises en solution chloroformique, ont fourni une liqueur foncée qui, chromato-

graphiée de nouveau, a laissé au sommet de la colonne un important anneau noir.

Devant ces faits, l'éluat clair obtenu au cours de la deuxième chromatographie fut évaporé immédiatement au fur et à mesure de son écoulement, sous pression réduite, mais bien que la chaleur du bain-marie soit très modérée, nous avons constaté un changement rapide de la teinte de la solution et, au lieu d'obtenir de belles aiguilles, nous avons recueilli une forme cristalline un peu différente. C'étaient de petits cristaux losangiques isolés ou réunis en petites mâcles d'une belle couleur rouge rubis.

P. F. 266-267°

Analyse

poids substance mg.	CO_2	OH_2	C %	H %
22,96	63,72	12,62	75,74	6,151
22,56	62,42	12,23	75,51	6,067
	N %			
20,50	9,259			
18,85	9,327			

Calculé pour la formule : $C_{19}H_{16}N_2,OH_2$

C %	H %	N %
78,58	6,25	9,65

Au microscope, nous avons observé dans la masse de ces cristaux de petites inclusions noires qui peuvent être de fines bulles d'air ou des amorces d'un processus de résinification.

Ainsi, au cours de ces chromatographies et des manipulations assez longues qu'elles ont nécessité, nous avons enregistré une perte de plus de 50 % sur un produit qui, à son origine, présentait toutes les garanties de pureté.

Nous avons tenté de traiter le produit amorphe de décomposition par épuisement à l'eau acide à chaud en vue d'en récupérer une partie cristallisable. Mais cette opération est restée sans succès. Le produit forme des grumeaux définitivement insolubles et la solution d'épuisement acide ne renferme aucune trace appréciable d'alcaloïde.

Conclusion

La sempervirine semble être un produit assez altérable. Principalement à l'état de base cristallisée à partir du chloroforme, elle fournit un produit amorphe qui a perdu les caractères de l'alcaloïde primitif. Cette altération est particulièrement rapide en présence de solvants.

§ 5 — Essai de purification de la sempervirine par distillation dans le vide

Il a été suffisamment montré, dans le chapitre précédent, que la purification de la sempervirine par recristallisation dans ses solvants est impossible et que l'on s'expose en la pratiquant à des pertes importantes de produit.

Il pouvait donc être utile de trouver un procédé de purification qui évite ces séjours dans les solvants.

Nous avons alors tenté d'effectuer cette purification par sublimation de l'alcaloïde dans le vide.

L'opération a été réalisée dans l'appareil à distillation de Raoul et Meunier.

Technique

On place 0,10 g. de sempervirine base dans la cornue de l'appareil que l'on chauffe après avoir fait le vide.

A 180°, sous une pression de 28 baryes, le réfrigérant se couvre lentement d'un sublimat jaune orangé. A la fin de l'opération il reste dans la cornue quelques gouttelettes brun foncé. La sempervirine ainsi sublimée forme une couche dure adhérant sur le réfrigérant et ne semble pas présenter un aspect cristallin caractéristique. Dans leur travail sur la sublimation des alcaloïdes, M. M. Janot et M. Chaigneau (13) ont cependant obtenu, en opérant sur une très petite quantité de sempervirine, dans un tube fin, un sublimat étalé en couche mince qui présente un aspect cristallin.

Quoi qu'il en soit, nous avons tenté divers essais de cristallisation sur la sempervirine sublimée, car nous pensions que cette sublimation pouvait l'avoir purifiée.

Ces essais furent infructueux et nous avons constaté

une fois de plus l'instabilité particulière de la sempervirine. Au cours de l'évaporation des solvants employés, en évitant soigneusement toute action néfaste de la chaleur, nous avons observé le brunissement rapide des solutions et, dans le cas de l'alcool, l'obtention finale d'un produit amorphe brun ne présentant plus les caractères de la base originale.

Il faut signaler en dernier lieu que le procédé de préparation de la base par addition de soude à une solution alcoolique de son chlorhydrate conduit parfois à des produits qui retiennent une certaine proportion de matière minérale et de chlorhydrate non décomposé. Les lavages répétés à l'eau tiède les éliminent difficilement et n'ont pas une bonne influence sur la qualité finale du produit.

De cette étude préliminaire ressortent donc les difficultés que l'on éprouve à préparer une sempervirine pure.

C'est pourquoi nous avons converti la plus grande partie de la base extraite en chlorhydrate suivant la méthode déjà décrite.

De formule : $C_{19}H_{16}N_2$, ClH, 2 OH_2, il est bien cristallisé.

§ 6 — Préparation des tartrates de sempervirine

Nous avons aussi préparé les tartrates gauche et droit de sempervirine qui sont intéressants, car ils ne présentent pas les mêmes caractères de solubilité que les sels correspondants de gelsémine, offrant ainsi un nouveau moyen de séparation des deux alcaloïdes mais, manquant de matière première, il ne nous a pas été possible d'étudier un nouveau procédé d'extraction basé sur ce principe.

Partie expérimentale

0,27 g. (0,001 mol.) de sempervirine base sont dissous dans 20 cm³ d'alcool à 95°.

Par ailleurs, on dissout 0,15 g. d'acide tartrique droit dans 5 cm³ d'alcool à 95°. On filtre la solution d'acide dans la solution de sempervirine à chaud. Il se produit un précipité jaune pâle se sédimentant rapidement par refroidissement.

Dans les mêmes conditions, nous avons préparé le tartrate gauche qui est jaune pâle également, mais dont l'aspect semble plus colloïdal.

Ces deux tartrates sont un peu solubles dans l'alcool chaud, ils sont solubles dans l'eau.

Nous avons évalué le pouvoir rotatoire d'une solution aqueuse de tartrate gauche.

$$\frac{-0{,}13 \times 10}{1 \times 0{,}0902} = -14^{0},41$$

P. F. : 190-191°

Il a été constaté, d'autre part, que l'addition d'une solution alcoolique d'acide tartrique à une solution de gelsémine base ne provoquait l'apparition d'aucun précipité, même par refroidissement, les conditions opératoires étant les mêmes que celles décrites pour la sempervirine.

CHAPITRE II

ÉTUDE DE LA STRUCTURE CHIMIQUE DE LA SEMPERVIRINE

§ I — Rappel des notions établies. — Généralités

La Sempervirine a été relativement peu étudiée. Ferreira, utilisant les réactions colorées caractéristiques de l'indole, n'avait pu conclure à la présence d'un noyau de cette nature, les résultats étant trop partagés. D'autre part, l'absence d'un groupement méthylimine lui paraissait probable. Cet auteur avait également étudié le spectre d'absorption de la sempervirine dans l'ultra-violet et établi les comparaisons avec les spectres de la cinchonamine, de la strychnine et de la brucine. Cette étude fut reprise par MM. Janot et Berton (12) et la comparaison faite cette fois avec les spectres de la quinoléine, de l'indole et de la pyridine. Il avait été constaté que la courbe de la sempervirine ne pouvait être rapprochée d'aucune des courbes envisagées.

Le chapitre relatif à la sempervirine de la publication de W.-G.-C. Forsyth, S.-F. Marrian, T.-S. Stevens (7) n'apporte aucune donnée nouvelle ; en voici un bref résumé :

« Trois molécules d'hydrogène sont absorbées par la sempervirine en présence de palladium et cinq au moyen de la méthode catalytique d'Adams.

Dans le premier cas, le produit obtenu se résinifie facilement : il n'a pu être cristallisé. Dans le deuxième cas, le produit isolé contient déjà de l'oxygène et en absorbe rapidement au contact de l'air.

La réduction de la sempervirine par la méthode de Clemmensen ou par la cathode de plomb n'a donné aucun résultat utile.

L'alcaloïde a été récupéré à l'état d'iodhydrate, après une longue ébullition en présence d'acide iodhydrique et de phosphore rouge.

La sempervirine donne un monoiodométhylate quaternaire qui, par dégradation, n'a donné aucun produit défini.

Avec le bromure de cyanogène, la sempervirine a donné du bromhydrate accompagné d'un produit amorphe.

Aucun résultat utile n'a été obtenu : — par oxydation de la base au moyen du permanganate, de l'acide nitrique, de l'acide chromique, du peroxyde d'hydrogène, du tétroxyde d'osmium,

: — par chauffage en présence de palladium dans l'air ou l'oxygène,

: — par fusion potassique. »

A notre connaissance, il n'y avait aucune autre publication permettant l'orientation de recherches complémentaires.

Nous avons donc entrepris l'étude de cet alcaloïde en appliquant les méthodes générales de détermination des structures.

Ayant retrouvé les valeurs analytiques, d'ailleurs peu discutables, de HASENFRATZ, on pouvait toutefois se demander si la molécule d'eau que l'on décèle dans l'analyse était de cristallisation ou de constitution : il semble que le départ de cette molécule d'eau à 100° ne modifie pas les caractères organoleptiques de la sempervirine, ce qui autorise à la considérer comme une molécule d'eau de cristallisation : nous verrons plus loin la discussion de ce point.

Appliquant à la formule : $C_{19}H_{16}N_2$ les considérations développées par FRÈREJACQUE (8) sur la constitution d'une molécule organique, en tenant compte du fait que la sempervirine donne un monoiodométhylate, que les deux azotes se présentent comme trivalents, et que, d'autre part, la sempervirine est dépourvue de pouvoir rotatoire, on obtient le résultat :

$$\gamma = c + 1 - \frac{h - n}{2} = 13$$

formule dans laquelle γ représente le degré de condensa-

tion, c, le nombre d'atomes de carbone, h, d'hydrogène, et n, d'azote.

On peut donc poser comme hypothèse de travail que la sempervirine possède 5 cycles et 8 doubles liaisons en se basant sur l'étude du spectre d'absorption dans l'ultra-violet.

On peut supposer également l'existence de doubles liaisons conjuguées, ce qui expliquerait la vive coloration du produit et son instabilité à l'état de base.

Ces hypothèses ont reçu un début de confirmation dans un travail récent préliminaire, à la partie technique duquel nous avons participé et dont l'étude sera poursuivie ultérieurement.

§ 2. — *Travaux personnels dont les résultats furent négatifs*

Dans ce paragraphe, nous mentionnerons différentes opérations dont les résultats n'apportèrent pas de renseignements nouveaux, quant à la connaissance de la structure de la sempervirine.

Essai d'hydrogénation catalytique de la sempervirine

Cette tentative d'hydrogénation a été exécutée suivant la technique déjà utilisée pour la gelsémine.

La base dissoute dans l'alcool absolu est additionnée de nickel RANEY. On agite dans un ballon à hydrogénation, mis en communication avec une réserve d'hydrogène à la pression ordinaire.

Après une demi-heure, l'absorption d'hydrogène est presque nulle et ne correspond pas à la fixation théorique d'une molécule d'hydrogène par molécule de sempervirine.

D'ailleurs une partie de la sempervirine a été récupérée inchangée, mais une fraction importante de l'alcaloïde s'est résinifiée suivant le processus signalé plus haut.

Cet essai est particulièrement décevant, connaissant l'insaturation de la sempervirine, très peu hydrogénée par rapport à son nombre d'atomes de carbone, mais il laisse prévoir ces liaisons uniquement dans des cycles.

Action de SO_2 gazeux

Essai qualitatif : on fait passer un courant de SO_2 dans une solution aqueuse de chlorhydrate de sempervirine. Il se produit un léger précipité de soufre et la solution devient incolore. On filtre pour éliminer le soufre. Le filtrat contient la sempervirine sous une forme incolore qui n'a pu être déterminée, car elle est très instable.

Essai d'Ozonisation

On fait passer un courant d'air ozonisé, produit par un appareil à effluves, dans une solution chloroformique concentrée de sempervirine base. L'air sortant barbote dans un flacon contenant une solution aqueuse d'iodure de potassium. On arrête l'opération quand cette solution se colore en jaune par libération d'iode. Il est à remarquer qu'après vingt-quatre heures la solution chloroformique de sempervirine ainsi traitée a gardé sa coloration primitive orangée et n'est pas devenue brun foncé comme il se produit généralement.

On évapore le chloroforme sous vide à la plus basse température possible. Le résidu, constitué en principe par un ozonide, est repris par l'eau pour le décomposer. On effectue ensuite sur la suspension aqueuse obtenue un entraînement à la vapeur d'eau dans le but d'isoler une fraction entraînable par ce procédé. En fait, il n'a pas été possible de caractériser un composé quelconque dans ce distillat.

Après être revenu à sec, on effectue sur le résidu un épuisement alcalin qui n'entraîne rien, puis un épuisement acide qui en dissout une partie. On obtient une solution aqueuse acide brune, qui est alcalinisée et épuisée au chloroforme. L'évaporation de ce chloroforme donnne un résidu amorphe incristallisable dans l'alcool et autres solvants.

Pour le purifier, nous avons effectué une suite de chromatographies sur alumine en solution chloroformique, ce qui a eu pour résultat l'isolement d'une petite quantité d'un produit cristallisé dans le chloroforme en très petits cristaux rouge vermillon.

P.F. 238°-239°

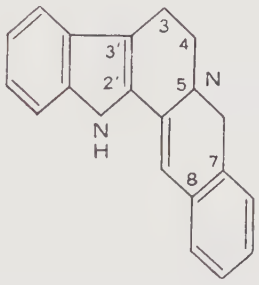
Analyse

C %	: 75,48	75,54
H %	: 6,865	6,677
N %	: 7,95	7,835

§ 3. — *Exposé sur les travaux permettant de proposer une formule pour la Sempervirine*

En même temps que nous, R. Goutarel, M.-M. Janot (Laboratoire de Pharmacie Galénique — Faculté de Pharmacie — Paris) et V. Prelog à Zurich, abordaient aussi l'étude de la constitution de la Sempervirine.

Ces auteurs, utilisant une sempervirine préparée par nous, publièrent en janvier 1948 (10) leurs recherches communes aboutissant à une formule qui fait de la sempervirine une benzo-7-8 (indole — 2' 3') dihydro-3-4 pyridocoline.



Cette formule ne présente pas de carbone asymétrique et possède huit doubles liaisons dont plusieurs conjuguées, ce qui confirme l'hypothèse que nous avons formulée plus haut.

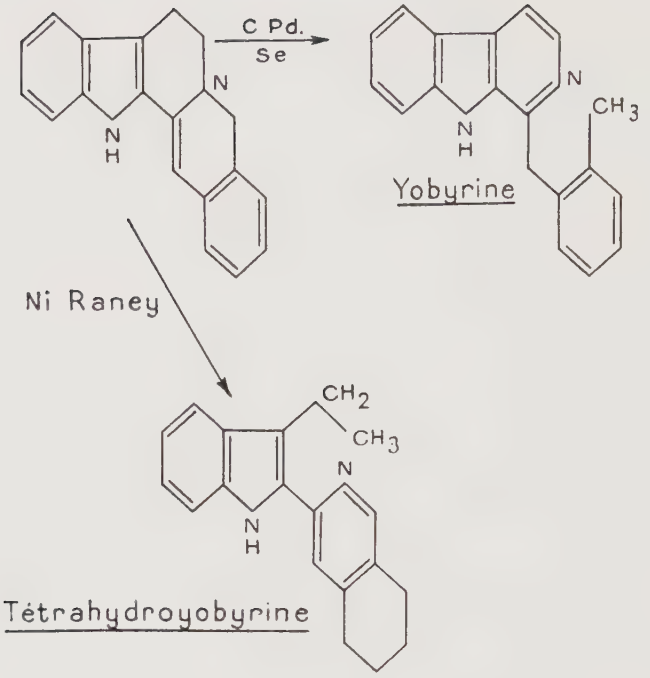
Elle montre, d'autre part, les rapports étroits existant entre la sempervirine et les alcaloïdes du groupe de la Yohimbine.

Peu après, V. Prelog (19) donnait une description plus détaillée des procédés employés.

La formule proposée est basée sur l'obtention :

1°/ de la yobyrine, par traitement de la sempervirine au charbon palladié et au sélénium ;

2°/ de la « tétrahydroyobyrine » ou α (β' tétraisoquinoléine) — β éthylindole, par action du nickel Raney dans le xylol.



Ayant pour notre part contribué à ces recherches, notamment en ce qui concerne la déshydrogénation au palladium (14), nous décrirons cette méthode dans le chapitre suivant, mais auparavant la formule de la sempervirine attire quelques remarques.

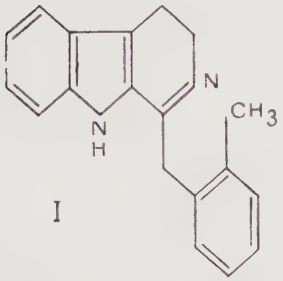
1° Les méthodes utilisées pour l'obtention de la yobyrine sont des méthodes de *déshydrogénation.*

En effet, lorsqu'on mesure le volume des gaz dégagés dans l'action du charbon palladié sur la sempervirine, on s'aperçoit que l'on obtient une quantité d'hydrogène très voisine de 1 molécule pour 1 molécule de sempervirine mise en œuvre : d'autre part, dans l'action du sélénium il y a formation d'hydrogène sélénié.

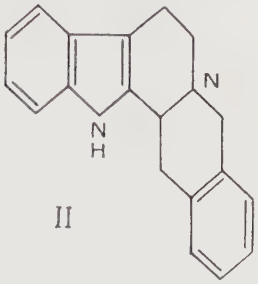
La formule brute donnée pour la sempervirine C_{19} H_{16} N_2 étant la même que celle de la yobyrine, on en conclut qu'il y a simplement eu isomérisation.

Le départ d'hydrogène proviendrait alors de réactions accessoires, mais le fait que la production d'hydrogène

soit très voisine de la quantité théorique peut aussi faire supposer que la sempervirine est une dihydroyobyrine, ou tout au moins lui faire attribuer la formule C_{19} H_{18} N_2 et les deux schémas suivants peuvent en rendre compte.



I



II

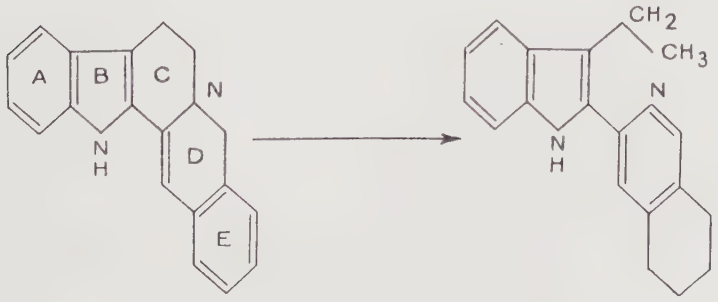
Or, les corps I et II ont été préparés synthétiquement par Clemo et Swan (5).

Le corps I est coloré, mais n'étant qu'un intermédiaire dans le travail de Clemo, il n'a malheureusement pas été étudié plus avant.

Le corps II (corps X de Clemo et Swan) est blanc.

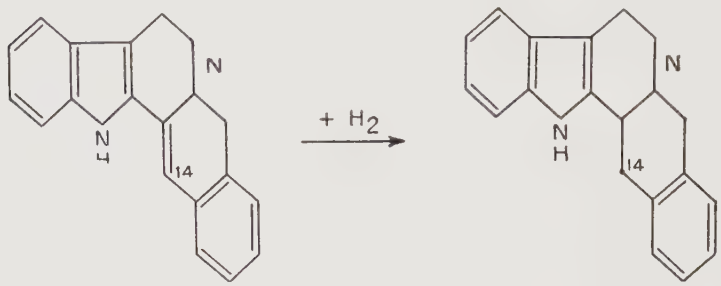
2° La formation de la « tétrahydroyobyrine » ou α (β' tétraisoquinoléine) — β éthylindole s'explique difficilement d'après la formule proposée de la sempervirine. En effet, il faudrait que, dans cette réaction, il y ait, en même temps que l'ouverture du cycle C, hydrogénation du cycle E par fixation de 2 molécules d'hydrogène pour obtenir la tétrahydroyobyrine.

Cette réaction ne peut s'expliquer que par un apport d'hydrogène par des réactions dites de « disproportionnement ».



On pouvait jusqu'à tout dernièrement supposer que la « tétrahydroyobyrine » ne correspondait pas à la structure du (tétrahydro-5, 6, 7, 8 isoquinoléyl-3) 2 éthyl-3 indole, mais cette hypothèse est à rejeter, car la synthèse de la « tétra-hydroyobyrine » vient d'être réalisée (18).

3° Nous avons pensé que si l'on admettait la formule proposée dans laquelle le carbone 14 est insaturé, il devait



être possible d'obtenir par des méthodes d'hydrogénation assez douces le corps X de Clemo et Swan en C_{19} H_{18} N_2

Par action du zinc et ClH en solution alcoolique, nous avons obtenu facilement la décoloration de la sempervirine, alors que la fluorescence bleue semblait devenir plus intense.

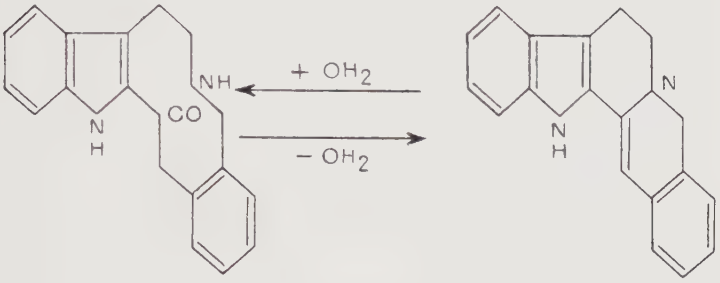
Le produit obtenu par précipitation à l'eau est blanc ; il jaunit très rapidement à l'air ; l'analyse montre qu'il contient un chiffre élevé de chlore et un résidu fixe de zinc.

Ce produit est différent de celui de Clemo et il possède un spectre d'absorption dans l'U.V. très voisin de celui de la sempervirine ; malheureusement le passage de ce composé à la base n'a pas été possible jusqu'alors, le produit obtenu se colorant rapidement et restant incristallisable.

4° Enfin, les alcaloïdes du groupe de la yohimbine possédant les 5 cycles A. B. C. D. E. donnent des réactions colorées caractéristiques par l'acide sulfurique en présence de différents oxydants ; ainsi avec le sulfate ferrique, obtention d'une coloration bleue.

La sempervirine ne donne pas de telles réactions colorées. On peut donc supposer ici qu'un des cycles est déjà ouvert comme dans le cas de la yobyrine et de la tétrahydroyobyrine qui ne donnent pas ces réactions.

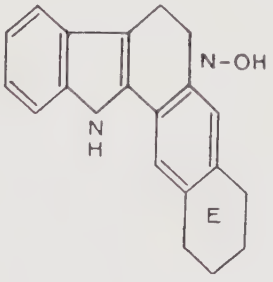
Cependant une partie de ces phénomènes peut s'expliquer en admettant que la sempervirine est une *énamine* qui peut réagir sous la forme ouverte (hydrogénation, réaction colorée d'oxydation) ou sous la forme fermée (déshydrogénation).



On peut donc faire intervenir dans la formule de la sempervirine une molécule d'eau de constitution qui expliquerait jusqu'à un certain point l'instabilité de la base dont nous parlons par ailleurs.

En conclusion, étant donné l'incertitude qui résulte de ces remarques relatives à la structure proposée par les auteurs cités, il est possible de ne pas la considérer comme définitive.

Admettant par ailleurs la formule C_{19} H_{18} N_2 on peut encore suggérer le schéma suivant :



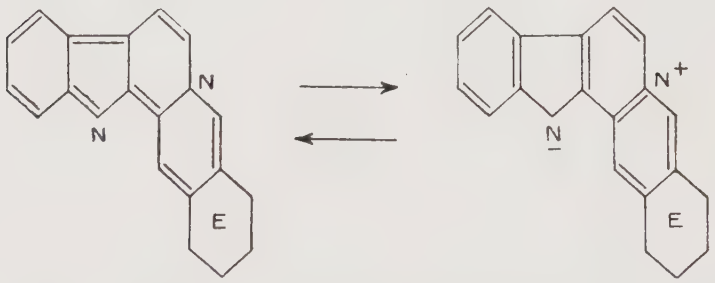
où le noyau E est hydrogéné, ce qui expliquerait

— le dégagement d'hydrogène très voisin de une molécule en présence de charbon palladié,

— la formation de « tétrahydroyobyrine » dans laquelle le noyau E est déjà hydrogéné.

N. B. — L'impression de ce travail ayant été retardée de plus d'une année, nous pouvons faire la remarque suivante :

WOODWARD ayant constaté l'absence de la bande NH à 2,9 μ dans le spectre infrarouge, a suggéré avec WITKOP (21) puis démontré avec Mc LAMORE que l'on devait attribuer à la sempervirine la structure suivante :



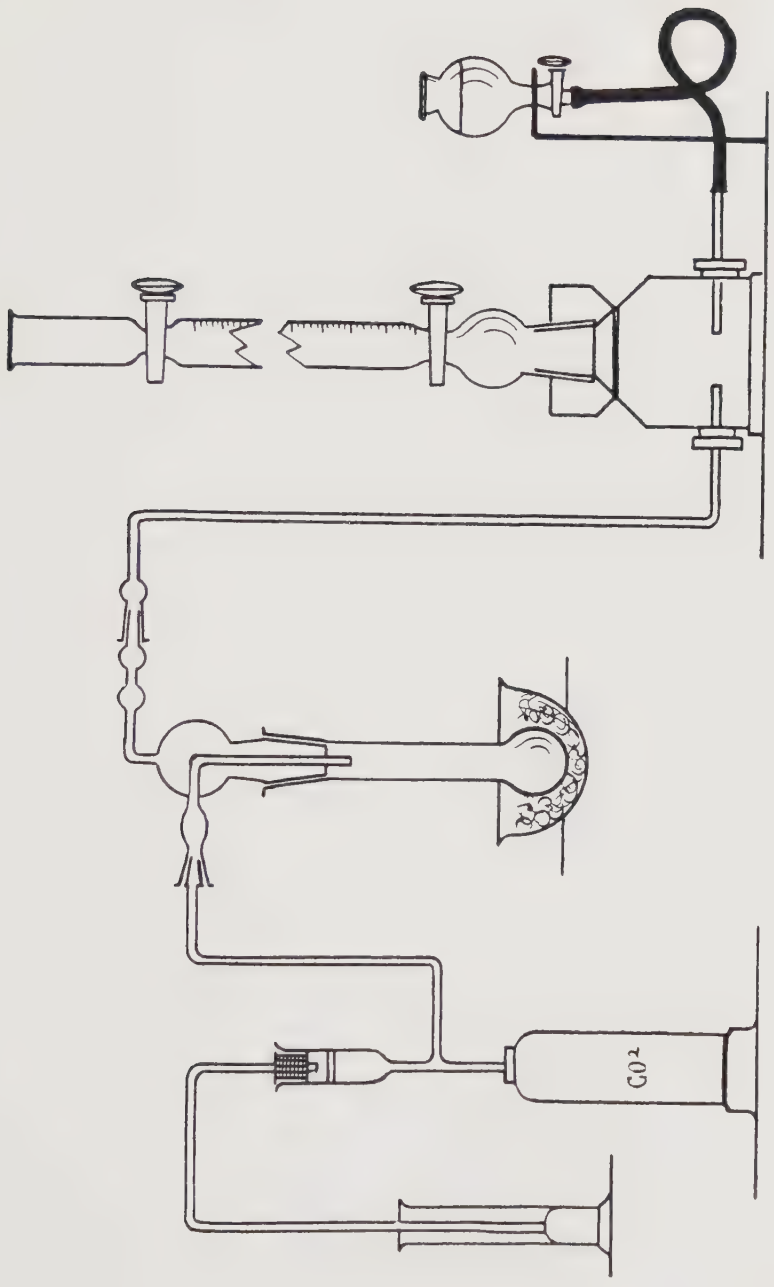
Ces résultats sont déduits à la fois de la dégradation et surtout de la synthèse des dérivés N-méthylés, et en particulier du chlorométhylate qui se montre identique au chlorométhylate de sempervirine naturel. Dans ces deux formules en équilibre, le cycle E est bien saturé.

§ 4. — PARTIE EXPÉRIMENTALE

a) *Chauffage de la sempervirine en présence de charbon palladié*

Une certaine quantité de sempervirine ayant été desséchée sous vide à 100°, nous en avons prélevé une prise d'essai de 0,512 g. qui fut mélangée à 0,20 g. de charbon palladié (15). Le mélange est alors introduit dans un petit matras Pyrex, muni d'un long col rodé, en évitant soigneusement de souiller les parois du col.

Le rodage est ajusté, et on achève de monter le reste de l'appareil dont la figure donne une description suffisante. On fait alors passer un courant d'anhydride carbonique jusqu'à ce que l'air soit complètement chassé. L'anhydride carbonique utilisé peut provenir d'une bouteille de ce gaz comprimé, mais dans ces conditions, il est rarement pur et contient de l'air, ce qui empêche de faire une lecture


CO²

exacte du volume des gaz dégagés au cours de l'opération. On utilisera avec avantage l'anhydride carbonique provenant d'une réserve de neige carbonique contenue dans une bouteille thermos ; le débit est alors réglé à l'aide d'une soupape de mercure. L'anhydride carbonique est conduit dans une solution aqueuse concentrée de potasse qui l'absorbe. Tout autre gaz barbote dans la solution alcaline et va s'accumuler dans une éprouvette graduée où se fera la mesure des volumes.

L'appareil étant vide d'air, et le débit d'anhydride carbonique réglé définitivement, on chauffe progressivement le matras au moyen d'un petit bain métallique.

On observe alors les phénomènes suivants :

— à 260°, la réaction commence et le courant de gaz carbonique entraîne de grosses bulles d'un gaz insoluble en solution alcaline ;

— à 285°, on voit apparaître dans le col du matras un dépôt abondant de fines aiguilles blanches. Cette sublimation va en s'accentuant au fur et à mesure que la température monte et le dégagement gazeux continue.

On maintient alors la température aussi stable que possible aux environs de 300°.

La courbe du dégagement a été construite et l'on voit qu'après un chauffage de deux heures et demie, l'opération est pratiquement terminée.

On laisse alors refroidir, démonte le ballon et gratte avec une spatule le dépôt cristallin sublimé. Le produit brut obtenu est introduit dans l'appareil à distillation où l'on fait un vide poussé (1/100 mm. de mercure).

On chauffe à 200° : la paroi froide se couvre d'un sublimat blanc amorphe que l'on isole.

A 280° : sublimation d'un produit brun.

Le premier sublimat est redissous dans l'éther anhydre : on filtre et concentre la solution. On obtient après séjour à la glacière un feutrage d'aiguilles blanc jaunâtre.

Le deuxième sublimat cristallise dans les mêmes conditions et donne un produit moins pur.

Plusieurs recristallisations dans l'éther anhydre de ces produits essorés donnent finalement de longues aiguilles soyeuses parfaitement blanches.

On essore et sèche sous vide en présence d'anhydre phosphorique.

Poids : 0,1049 g.
P.F. : 216°

D'autre part, on récupère le charbon palladié resté dans le fond du ballon. On l'introduit dans l'appareil à distillation.

Par chauffage à 280°-300°, on obtient un sublimat brun qui, par recristallisations successives dans l'éther anhydre, fournit une petite quantité du même produit dans un moins grand état de pureté.

Nous avons préparé le picrate de ce produit cristallisé :

— 0,0361 g. sont dissous dans l'eau acidulée par l'acide chlorhydrique. La solution obtenue présente une très vive fluorescence bleue. On ajoute alors une solution aqueuse saturée d'acide picrique.

Il se produit immédiatement un précipité jaune vif qu'on essore et fait sécher.

P.F. : 260°

Analyses

A. — *Analyse du gaz dégagé*

Le volume du gaz dégagé au cours de l'opération est de 47,5 cm³. Une prise d'essai de 3,48 cm³ fut prélevée et analysée avec les résultats suivants :

0,13 cm³ CO,
0,10 cm³ O_2,
0,10 cm³ CH_4,
2,83 cm³ H_2,
0,32 cm³ résidu indéterminé.

Le volume d'hydrogène contenu dans les 47,5 cm³ est donc de 38,6 cm³.

Si nous calculons le volume d'hydrogène dégagé par une molécule de sempervirine perdant une molécule d'hydrogène, nous trouvons :

42,1 cm³

La quantité d'hydrogène dégagé au cours de l'opération est donc inférieure à la quantité calculée pour la perte d'une molécule d'hydrogène, et nous ne pouvons en conclure

que cette opération a été une déshydrogénation. Nous avons exposé plus haut la discussion sur ce point.

B. — *Analyse du produit blanc cristallisé P.F. :* 216°

Poids substance	CO_2	H_2O	C %	H %	N %
mg.					
2,690	8,305	1,410	84,25	5,86	
3,140	9,665	1,795	84	6,39	
6,04					9,98
5,48					9,86
Calculé pour : C_{19} H_{16} N_2			83,79	3,92	10,28

C. — *Analyse du picrate*

Poids substance	CO_2	H_2O	C %	H %	N %
mg.					
3,575	7,860	1,390	60	4,35	
3,715	8,150	1,370	59,87	4,31	
6,76					13,50
5,6					13,86
Calculé pour : C_{19} H_{16} N_2, C_6H_2(OH)$(NO_2)_3$			59,87	3,81	13,96

Les constantes physiques de ce produit et de son picrate, sa vive fluorescence caractéristique et les données analytiques l'ont fait identifier comme étant de la *yobyrine.*

b) *Chauffage de la sempervirine en présence de sélénium*

On mélange intimement au mortier 1 g. de chlorhydrate de sempervirine et 1 g. de sélénium. La poudre obtenue est introduite dans un petit ballon surmonté d'une longue canne de verre destinée à condenser les produits volatils.

On chauffe le ballon au moyen d'un bain métallique.

Les phénomènes observés sont alors les suivants :

Heure	*Températures*	*Observations*
0	280°	0
	300°	Apparition de vapeurs violettes.
	320°	*idem*
	330°	Fusion de la masse.
	340°	Sublimation en anneau dans le ballon d'un produit jaunâtre.
35'	348°	Distillation d'une huile dont les gouttelettes se mélangent avec le produit précédent.
	350°	

On laisse refroidir et découpe le fond du ballon pour isoler le sublimat. La calotte supérieure est pulvérisée et les débris de verre chargés de produit sont introduits dans un soxhlet et épuisés à l'éther pendant quatre heures.

La solution éthérée évaporée ne laisse qu'un très faible résidu incristallisable. On effectue alors un second épuisement, à l'alcool cette fois, et l'on obtient une solution brune présentant une vive fluorescence violette.

D'autre part, on épuise de la même façon le vernis noir resté dans le fond du ballon.

Les solutions alcooliques obtenues dans ces opérations sont additionnées d'une solution alcoolique concentrée d'acide picrique. On voit apparaître un précipité de picrate qui se dépose peu à peu. On essore et sèche.

Ce picrate qui est brun et impur, est purifié par de nombreuses cristallisations dans l'alcool, l'acétone, et finalement l'acétone additionné d'eau jusqu'à début de floculation.

On obtient finalement un picrate jaune vif.

P.F. 259°-260°
Poids : 0,32 gr.

qui a été identifié comme étant du picrate de yobyrine.

c) *Distillation dans le vide du chlorhydrate de sempervirine sur poudre de zinc*

Cette technique nous ayant donné des résultats intéressants pour la gelsémine, nous l'avons appliquée à la sempervirine en employant 1 g. d'alcaloïde.

Nous avons isolé une très faible quantité d'un produit indolique peu stable, dont la purification n'a pu être complète. Ce produit est probablement de l'éthylindole et comme les résultats précédents étaient concluants et s'accordaient avec cette supposition, nous n'avons pas renouvelé cette opération qui, pour être menée à bien, exige une quantité trop importante d'alcaloïde.

Le chlorhydrate de sempervirine (1 g.) et la poudre de zinc étant séchés sous vide sur anhydride phosphorique, on conduit l'opération comme il a été décrit pour la gelsémine dans un appareil identique.

La distillation d'un vernis brun jaune s'est produite entre 350° et 400°. Cette dernière température a été maintenue pendant une demi-heure. Tout ce qui avait distillé a été repris à l'éther. La solution éthérée était colorée en jaune vif et présentait une fluorescence verte très intense. Un épuisement acide et un épuisement alcalin furent pratiqués. L'épuisement acide présentait une fluorescence violette intense, mais les moyens de purification utilisés n'ont pas permis l'isolement d'un produit caractérisable.

La solution éthérée ainsi épuisée conservait cependant sa fluorescence et sa couleur jaune orangé. Elle fut séchée, puis concentrée doucement au bain-marie, ce qui amena la formation de quelques petits cristaux incolores qui furent essorés mais leur instabilité était grande, et à l'air ils sont devenus rouges, puis bruns. Leur odeur était nettement indolique et non suave comme dans le cas de la gelsémine.

Différents essais de recristallisation, dans l'éther de pétrole en particulier, n'ont pas donné de résultats plus satisfaisants. Les quelques petits cristaux obtenus sont toujours restés cireux. Ils se coloraient rapidement en rose et les eaux-mères devenaient brunes.

Il semble cependant que le point de fusion de ce produit était proche de 95°, ce qui nous a permis de supposer qu'il s'agissait d'éthylindole, mais sans aucune confirmation analytique.

CONCLUSION

Nous avons dans la première partie de ce travail :

— indiqué une méthode d'extraction des alcaloïdes du *GELSEMIUM SEMPERVIRENS* basée sur la précipitation de ces alcaloïdes à l'état de picrates.

— isolé par chromatographie des eaux-mères de la gelsémine, une faible quantité d'un troisième alcaloïde cristallisé, doué d'un pouvoir rotatoire gauche, dont les constantes physiques et les caractères analytiques sont assez proches de ceux de la gelsémicine.

Dans la deuxième partie nous avons :

— étudié, dans une certaine mesure, la constitution de la gelsémine et isolé par distillation sous vide en présence de poudre de zinc, un produit de dégradation : le *3-Méthyloxindole* dont nous avons par ailleurs fait la synthèse ;

— contribué à l'établissement d'une formule de la sempervirine qui, d'après les renseignements obtenus par chauffage en présence de charbon palladié, d'une part, de sélénium, d'autre part, pourrait être considérée comme une :
benzo-7-8 (indole-2'-3') dihydro-3-4 pyridocoline.

BIBLIOGRAPHIE

1. Bayer (A.). — Uber die Reduction aromatischer Verbindungen mittelst Zinkstaub, *Lieb. Ann.*, 1866, **140**, 295.
2. Brunner (K.). — *Monatsh. Chem.*, 1897, **18**, 527.
3. Chou (T. Q.). — Alkaloïds of GELSEMIUM SEMPERVIRENS, *Chinese Journal of Physiologie*, 1931, **5**, 131-139 et 295-300.
4. Chu (T. T.) and Chou (T. Q.). — The reduction of Gelsemine, *J. Amer. Chem. Soc.*, 1940, **62**, 1955-1957.
5. Clemo (G. R.) and Swan (G. A.). — The constitution of Yohimbine, *J. Chem. Soc., London*, 1946, p. 617.
6. Ferreira (M.). — Contribution à l'étude des alcaloïdes du GELSEMIUM SEMPERVIRENS, *Thèse Doct. Univ. Pharm.*, Paris, 1940.
7. Forsyth (W. G. C.), Marrian (S. F.) and Stevens (T.S.). — The alkaloïds *of* GELSEMIUM SEMPERVIRENS, *J. Chem. Soc., London*, 1945, p. 579.
8. Frèrejacque (M.). — Condensation d'une molécule organique, *Bull. Soc. Chim. France*, 1939, **6**, 1008.
9. Goldner (M.). — Beiträge zur Kenntniss des Gelsemins, *Ber. d. pharm. Ges.*, 1895, **5**, 330-359.
10. Goutarel (R.), Janot (M. M.) und Prelog (V.). — Uber die Konstitution des Sempervirins, *Experientia*, 1948, *IV*, 24-25.
11. Hasenfratz (V.). — *Bull. Soc. Chim. France*, 1933, **53**, 1084-1087.

12. Janot (M. M.) et Berton (A.). — Etude comparée des spectres d'absorption dans l'ultra-violet de solutions de gelsémine, de strychnine, de sempervirine et de cinchonamine, *C.R. Acad. Sc.*, 1943, **216**, 564-566.

13. Janot (M. M.) et Chaigneau (M.). — Sublimation des alcaloïdes sous pression réduite, *C. R. Acad. Sc.*, 1947, **225**, 1371-1373.

14. Janot (M. M.), Prelog (V.), Goutarel (R.) et Debay (A.). — Sur la Sempervirine, alcaloïde du GELSEMIUM SEMPERVIRENS, *Communication Académie de Pharmacie*, 7 janv. 1948.

15. Linstead et Coll. — *J. Chem. Soc., London*, 1937, p. 1151.

16. Marion. — *Canadian J. Res.*, 1943, **21**, 247.

17. Moore (Ch. W.). — Some derivatives of Gelsemine, *J. Chem. Soc., London*, 1911, **99**, 1231-1240.

18. Julian (P. L.), Karpel (W. J.), Magnani (A.), et Mayer (E. W.). — Studies in the indole series, *J. Amer. Chem. Soc.*, 1948, **70**, 180

19. Prelog (V.). — Uber das Sempervirin, *Helv. chim. Acta*, 1948, **31**, 588.

20. Schmidt (E.). — Uber die Gelseminsaüre, *Arch. Pharm.*, 1898, **236**, 324-328.

21. Woodward (R. B.), Mc Lamore. — The synthesis of sempervirine methochloride, *J. Amer. Chem. Soc.*, 1949, **71**, 379.

22. Woodward (R.B.), Witkop (B.). — The structure of sempervirine *J. Amer. Chem. Soc.*, 1949, **71**, 379.